



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ**

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

**ENERGETICKÝ ÚSTAV**

ENERGY INSTITUTE

**INHALÁTORY A NEBULIZÁTORY PRO POUŽITÍ V  
MEDICÍNĚ: PRINCIPY, SPOLEHLIVOST A PROVOZNÍ  
PARAMETRY**

INHALERS AND NEBULIZERS FOR MEDICAL USE: THEIR PRINCIPLES, RELIABILITY, AND OPERATING  
PARAMETERS

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Ondrej Mišík**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. František Lízal, Ph.D.**

**BRNO 2019**



# Zadání diplomové práce

Ústav: Energetický ústav  
Student: **Bc. Ondřej Mišík**  
Studijní program: Strojní inženýrství  
Studijní obor: Technika prostředí  
Vedoucí práce: **Ing. František Lízal, Ph.D.**  
Akademický rok: 2018/19

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

## **Inhalátory a nebulizátory pro použití v medicíně: principy, spolehlivost a provozní parametry**

### **Stručná charakteristika problematiky úkolu:**

V posledních letech stále více roste počet lidí postižených nemocemi dýchacího systému. Zároveň s tím se zvyšuje poptávka po kvalitních přístrojích pro distribuci léčiva do dýchacích cest. Nebulizátory jsou větší zařízení, která se používají zejména v nemocnicích, v nichž se vytváří aerosol z tekutého léčiva a pacient vdechuje pomocí masky přiložené na obličej. Inhalátory jsou malé přenosné přístroje, které má pacient neustále u sebe. Dle typu se dělí na metered dose inhalers (aerosolové dávkovače) a dry powder inhalers (inhalátory pro práškovou formu léku). Úkolem studenta bude popsat principy jednotlivých zařízení a dále se zaměřit na parametry vytvářeného aerosolu v závislosti na provozních parametrech. Současně také budou řešeny způsoby správného vzorkování velikostního spektra generovaných částic a eliminace negativních jevů při používání inhalačních systémů v praxi.

### **Cíle diplomové práce:**

Provést rešerši principů a experimentálních metod pro testování inhalátorů a nebulizátorů.  
Sestavit měřicí trať a změřit velikostní spektra z několika typů inhalátorů.  
Porovnat výsledky jednotlivých typů inhalátorů, zhodnotit vliv různých experimentálních metod a výsledky porovnat s dostupnou literaturou.

### **Seznam doporučené literatury:**

HINDS, W. C.: Aerosol Technology: Properties, Behavior, And Measurement Of Airborne Particles, Wiley-interscience, 1999, 504 p.  
FINLAY, W.: The mechanics of inhaled pharmaceutical aerosols. An Introduction, Academic press, San Diego, 2001.

HICKEY, A. J.: Pharmaceutical inhalation aerosol technology, Marcel Dekker, New York, 2004.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2018/19

V Brně, dne

L. S.

---

doc. Ing. Jiří Pospíšil, Ph.D.  
ředitel ústavu

---

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.  
děkan fakulty

## Abstrakt

Problematika inhalačnej liečby je veľmi komplexnou problematikou a hoci je v posledných desaťročiach aktívne diskutovanou témou, jej rozvoj vo viacerých smeroch je viac než žiadaný.

Prvá časť tejto práce predstavuje teoretický úvod do princípov takejto terapie a z nich vyplývajúcich požiadaviek na inhalačné zariadenia. Stručne popisuje dostupné technológie inhalátorov a nebulizérov používaných v medicíne, parametre, ktoré určujú ich účinnosť a faktory, ktoré ju pri používaní ovplyvňujú.

Druhá časť je venovaná experimentálnemu stanoveniu parametrov aerosólu, ktorý vybrané zariadenia generujú. Popisuje tak viaceré úskalia spojené s metodikou takýchto meraní, vzorkovaním a následným vyhodnocovaním, a získané parametre porovnáva s dostupnou literatúrou.

## Abstract

An issue of inhalation therapy is a complex topic, actively discussed in last decades, and its progress in various scientific fields is more than required.

First part of this thesis brings a theoretical introduction into principles of aerosol therapy and into the requirements resulting from them. Commonly available technologies of inhalers and nebulisers for medical usage, parameters that determinate their effectivity are briefly described. Usage mistakes influencing the effectivity of inhalation are discussed, as well.

Second part deals with experimental measurements of aerosol that selected inhalers generate. It also describes difficulties connected with the methods of these measurements, with sampling and following analyses. Gained results are compared with an available literature.

## Kľúčové slová

Aerosólový dávkovač, inhalátor na práškovú formu lieku, SoftMist inhalátor, nebulizér, aerosól, veľkostná distribúcia, aerodynamický priemer, Andersenov kaskádový impaktor, depozícia častíc.

## Key words

Metered dose inhaler, dry powder inhaler, SoftMist inhaler, nebuliser, aerosol, particle size distribution, aerodynamic diameter, Andersen Cascade Impactor, particle deposition.

## Bibliografická citácia

MIŠÍK, Ondrej. *Inhalátory a nebulizátory pro použití v medicíně: principy, spolehlivost a provozní parametry* [online]. Brno, 2019 [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/117143>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Energetický ústav. Vedoucí práce František Lízal.

## Prehlásenie

Prehlasujem, že som diplomovú prácu na tému *Inhalátory a nebulizátory pro použití v medicíně: principy, spolehlivost a provozní parametry* vypracoval samostatne s použitím odbornej literatúry a prameňov uvedených na zozname.

V Brne dňa 24.5. 2019

.....  
Bc. Ondrej Mišík

## **Podakovanie**

Týmto by som chcel vysloviť vďaku vedúcemu diplomovej práce Ing. Františkovi Lízalovi, Ph.D. za venovaný čas, množstvo drahocenných rád a vľúdnosť pri konzultáciách. Rovnako by som rád poďakoval Arpádovi Farkasovi, Ph.D., MVDr. Silvii Bilčíkovej a MUDr. Elene Lízalovej Šujanskej za dodanie inhalačných zariadení, ktoré umožnili realizáciu tejto práce a v neposlednom rade patrí vďaka Ing. Milanovi Malému za pomoc pri meraní systémom LDA a PDA.



## Obsah

1	Úvod .....	12
2	Inhalácia terapeutických aerosólov .....	14
2.1	Depozícia aerosólových častíc v ľudských pľúcach .....	16
2.2	Inhalačné systémy .....	19
2.2.1	Aerosólové dávkovače .....	19
2.2.2	Respimat SMI .....	20
2.2.3	Inhalátory na práškovú formu lieku .....	20
2.2.4	Nebulizéry .....	23
2.3	Spôľahlivosť inhalátorov a bežné chyby v ich používaní .....	24
2.3.1	Faktory ovplyvňujúce účinnosť aerosólových dávkovačov .....	25
2.3.2	Faktory ovplyvňujúce účinnosť inhalátorov na práškovú formu lieku .....	26
2.3.3	Faktory ovplyvňujúce účinnosť dýzových nebulizérov .....	26
2.3.4	Vplyv inhalačných prietokov .....	27
3	Experimentálne metódy na meranie parametrov inhalačných zariadení .....	29
3.1	Impaktory .....	29
3.1.1	Andersenov kaskádový impaktor (ACI) .....	30
3.1.2	Dvojstupňový sklenený odlučovač (Twin Impinger) .....	32
3.1.3	Viacstupňový kvapalinový odlučovač (MLI) .....	32
3.1.4	Marple-Miller impaktor .....	33
3.1.5	Next generation Impactor .....	33
3.2	Aerodynamic Particle Sizer .....	34
3.3	Laserová Dopplerovská anemometria (LDA) a Fázová Dopplerovská anemometria (PDA) .....	34
4	Metodika .....	35
4.1	Meranie DPI zariadení .....	35
4.1.1	Gravimetrická analýza deponovaných frakcií na plátkoch impaktora .....	37
4.1.2	Analýza pomocou vysokovýkonnej kvapalinovej chromatografie .....	37
4.1.3	Stanovenie veľkostného spektra častíc DPI pomocou Aerodynamic Particle Sizeru .....	39
4.2	Meranie inhalátora Atrovent (MDI) .....	40
4.3	Metodika merania zariadenia Respimat SMI .....	41
4.3.1	Meranie inhalátora Respimat SMI na ACI s využitím fluoresceínom označeného roztoku .....	41
4.3.2	Meranie FPF inhalátora Respimat SMI na realistickom modeli ústnej dutiny .....	42

4.3.3	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou APS.....	43
4.3.4	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou PDA a LDA .....	43
5	Výsledky .....	44
5.1	Fostair NEXThaler.....	44
5.1.1	Gravimetrická analýza parametrov aerosólu inhalátora Fostair NEXThaler pomocou ACI .....	45
5.1.2	Chemická analýza parametrov inhalátora Fostair NEXThaler meraných pomocou ACI.....	47
5.1.3	Meranie veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Fostair NEXThaler pomocou APS .....	49
5.2	Brimica Genuair.....	51
5.2.1	Gravimetrická analýza merania inhalátora Brimica Genuair na ACI ....	51
5.2.2	Meranie inhalátora Brimica Genuair pomocou APS.....	53
5.3	Atrovent .....	54
5.3.1	Meranie MDI Atrovent pomocou ACI pri gravimetrickej analýze.....	54
5.3.2	Meranie MDI Atrovent pomocou APS .....	56
5.3.3	Meranie MDI Atrovent pomocou PDA.....	57
5.3.4	Meranie MDI Atrovent pomocou LDA systému .....	58
5.4	Respimat SMI .....	59
5.4.1	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou ACI .....	59
5.4.2	Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou APS .....	61
5.4.3	Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou PDA .....	63
5.4.4	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou LDA.....	65
5.4.5	Meranie deponovanej frakcie v modeli ústnej dutiny .....	66
6	Diskusia .....	67
6.1	Fostair NEXThaler.....	67
6.1.1	Meranie Fostair NEXThaleru pomocou ACI.....	68
6.1.2	Meranie inhalátora Fostair NEXThaler pomocou APS.....	69
6.2	Meranie DPI inhalátora Brimica Genuair .....	69
6.2.1	Meranie zariadenia Brimica Genuair na ACI.....	69
6.2.2	Meranie inhalátora Brimica Genuair pomocou APS.....	70
6.3	Merania zariadenia Atrovent .....	71
6.3.1	Meranie Atroventu na ACI.....	71
6.3.2	Meranie zariadenia Atrovent pomocou APS.....	73
6.3.3	Meranie Atroventu pomocou PDA .....	73
6.3.4	Meranie zariadenia Atrovent pomocou LDA.....	74
6.4	Respimat SMI .....	74
6.4.1	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou ACI .....	75

6.4.2	Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou APS .....	76
6.4.3	Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou PDA .....	77
6.4.4	Meranie rýchlostného profilu inhalátora Respimat SMI pomocou systému LDA .....	78
6.4.5	Meranie depozície častíc zariadenia Respimat SMI v modeli horných dýchacích ciest pomocou fluorescencie .....	78
7	Záver .....	80
8	Bibliografia .....	82
9	Zoznam použitých skratiek a symbolov .....	87
10	Zoznam použitých obrázkov .....	89
11	Zoznam použitých tabuliek .....	91
12	Prílohy .....	92
12.1	Veľkostné distribúcie aerosólu z Fostair NEXThaleru .....	92
12.1.1	Kumulatívne vyjadrenie neupravenej distribúcie meranej gravimetricky na ACI .....	92
12.1.2	Kumulatívne vyjadrenie neupravenej distribúcie meranej pomocou HPLC na ACI .....	93
12.1.3	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu Fostair NEXThaleru meranej pomocou APS .....	94
12.2	Brimica Genuair .....	95
12.2.1	Veľkostná distribúcia častíc inhalátora Brimica Genuair meraná na ACI .....	95
12.2.2	Kumulatívna veľkostná distribúcia častíc aerosólu inhalátora Brimica Genuair meraná na APS .....	97
12.3	Atrovent .....	97
12.3.1	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané na ACI .....	97
12.3.2	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané pomocou APS .....	98
12.3.3	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané pomocou PDA .....	99
12.4	Respimat SMI .....	101
12.4.1	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI merané na APS .....	101
12.4.2	Kumulatívne vyjadrenie veľkostných distribúcií zariadenia Respimat SMI meraných pomocou PDA .....	102
12.4.3	Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI meranej pomocou ACI s využitím fluorescencie .....	104
13	Zoznam príloh .....	105

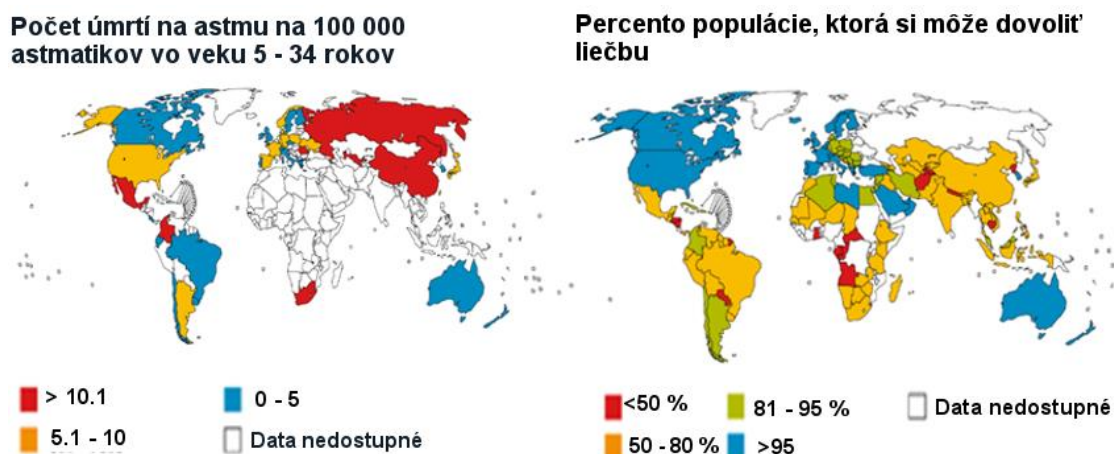
# 1 Úvod

Znečistenie ovzdušia, či už v lokálnej alebo globálnej miere je už viac desaťročí aktívne diskutovanou témou. Aj napriek veľkým pokrokom v technickej, ale aj sociálnej a legislatívnej oblasti, je nutné neustále rozširovať znalosti o dopadoch a riešeníach tohto problému. Nezdravé životné prostredie, ktoré je spôsobené enormnou produkciou, predstavuje podmienky výrazne nevhodné pre život, čo sa prejavuje najmä v rozvojových krajinách. Obyvatelia sú intenzívne a dlhodobo vystavovaní tomuto prostrediu, a tak je dopad na ich zdravotný stav nespochybniteľný.

Dlhodobé dýchanie znečisteného vzduchu poškodzuje dýchacie cesty, pričom pľúcny parenchým a mechanizmy mukociliárneho čistenia bronchov nedisponujú schopnosťou úplnej regenerácie, a tak sa takéto poškodenie stáva chronické. Podľa Svetovej Zdravotníckej Organizácie (WHO) nástupom moderného mestského životného štýlu došlo k viditeľnému rozšíreniu astmy. Dnes údajne žije na svete okolo 300 miliónov ľudí rôznych vekových kategórií trpiacich astmatickým ochorením a svetová mortalita týchto pacientov je približne 250 000 úmrtí ročne [1]. Ročný počet astmatikov nie je rovnomerne rozložený po svete a mortalita týchto pacientov je spojená s nedostupnosťou liečby, a tak dosahuje väčšie pomerné hodnoty v rozvojových krajinách [1]. Geografické znázornenie tohto problému je viditeľné na porovnaní máp na obrázku 1, kde napriek neúplnosti údajov je možné badať súvislosť [1].

Poruchy dýchania môžu byť vo všeobecnosti tzv. obštrukčné a reštrikčné. Obštrukčné poruchy dýchania sú spôsobené zúžením dýchacích ciest. Toto zúženie môže byť lokálne (nádor, cudzie teleso atď.) alebo celkové (emfyzém, priedušková astma, chronická bronchitída atď.). Reštrikčnými poruchami dýchania (pneumokoniózy, intersticiálne fibrózy, edémy atď.) rozumieme poruchy priamo obmedzujúce dýchacie funkcie, to znamená napríklad stratu funkčného pľúcneho parenchýmu či obmedzenie dýchacích pohybov. V nasledujúcom texte sú diskutované hlavne obštrukčné ochorenia, pretože práve na ich liečbu sú určené inhalačné liečivá skúmané v experimentálnej časti tejto práce.

Jednou z najčastejších obštrukčných chorôb je priedušková astma (*Astma bronchiale*). Príčinami môžu byť genetické predispozície, či environmentálne vplyvy. Ide o chronickú zápalovú chorobu, ktorá sa prejavuje zvýšenou reaktivitou na rôzne



Obrázok 1: Geografické znázornenie mortality astmatikov (počet úmrtí na 100 000 pacientov s astmou vo vekovej kategórii od 5 po 34 rokov) - Mapa naľavo; Geografické znázornenie percentuálnej časti populácie, ktorá si môže dovoliť potrebné lieky - Mapa napravo [1]

stimuly, a tak spôsobuje obštrukciu priedušiek. Táto obštrukcia je vratná (reverzibilná), buď spontánne alebo po terapii [2].

Ďalším výrazným ochorením dýchacích ciest je Chronická obštrukčná choroba pľúc (CHOCOP). Tá je charakterizovaná prieduškovou obštrukciou, ktorá vedie k postupnému skomplikovaniu prúdenia a nie je plne reverzibilná. Vzniká ako dôsledok chronických zápalov spôsobených najčastejšie fajčením, no taktiež znečistením okolitého prostredia, infekciami, či v dôsledku genetických predispozícií [2, 3]. Zápalové poškodenie tkanív zapríčiňuje zmenu ich elastických vlastností (úbytok elastických vlákien) [3]. To sa odráža na zmenách pľúcnych objemov. Poškodenie alveol a elastických tkanív zvýši poddajnosť pľúc a zvyšuje tak funkčnú reziduálnu kapacitu pľúc (FRC)<sup>1</sup> [3]. Pľúca sa pri maximálnom nádychu viacej roztiahnu a zvýši sa ich celková pľúcna kapacita (TLC)<sup>2</sup>. Pacient kvôli obštrukcii často nie je schopný úplného výdychu a znižuje sa jeho jednosekundová vitálna kapacita (FEV<sub>1</sub>)<sup>3</sup>, a to spôsobí postupné zväčšovanie reziduálneho objemu pľúc a následne vznik emfyzému [3, 5, 6]. Z hľadiska počtu úmrtí je dnes CHOCOP najväčším pľúcnym ochorením a podľa WHO bude v roku 2030 treťou najčastejšou príčinou smrti na svete [5, 7].

Rozvoj v oblasti inhalačnej liečby však nie je dôležitý iba pre liečbu pľúcnych ochorení. Inhalačné podanie liečiva sa pri správnom dimenzovaní stáva mocným nástrojom aj pre liečbu chorôb nesúvisiacich s respiračným traktom. Keďže táto práca je akýmsi pokračovaním bakalárskej práce *Inhalátory a nebulizátory pro použití v medicíně* [8], viaceré state, ktoré v nej boli podrobnejšie rozpracované, budú v tejto diplomovej práci podstatne zostrúchnené, alebo sa budú odkazovať na vysvetlenia a popisy zo spomínanej bakalárskej práce.

---

<sup>1</sup> Functional Residual Capacity (FRC) hovorí o objeme vzduchu, ktorý ostane v pľúcach na konci kludového výdychu. Je súčtom reziduálneho a expiračného rezervného objemu pľúc. [4]

<sup>2</sup>Total Lung Capacity (TLC) je celkové množstvo vzduchu, ktoré sa do pľúc zmestí. [4]

<sup>3</sup> Forced Expiratory Volume in 1 second (FEV<sub>1</sub>) alebo jednosekundová vitálna kapacita je objem vzduchu, ktorý človek vydýchne v priebehu prvej sekundy usilovného výdychu.

## 2 Inhalácia terapeutických aerosólov

Inhalačná liečba sa stala v posledných desaťročiach veľmi diskutovanou témou a zažíva výrazný progres. Jej účinok je však závislý od mnohých parametrov. Okrem vlastností samotného liečiva je to najmä miesto usadenia častice terapeutického aerosólu. Častica liečiva na liečbu pľúcnych chorôb na to, aby bola účinná, musí byť dopravená na miesto v pľúcach, ktoré disponuje príslušnými receptormi, pre ktoré je liečivo určené, prípadne na miesto, kde sa nachádza lokálny problém, na ktorý má liek pôsobiť. V prípade, že má byť liečivo vstrebané do krvného obehu, je cieľom dopraviť liečivé častice do koncových častí pľúc, kde prebieha okysličovanie krvného obehu.

V tejto práci budú rozoberané primárne inhalátory určené na liečbu astmy a CHOCHP. Cieľom liečiv na tieto ochorenia je bronchodilatácia, teda rozšírenie priedušiek a uľahčenie prietoku vzduchu. Tá sa dosahuje pôsobením na príslušné receptory. V pľúcach sa nachádzajú dva typy receptorov, ktoré priamo spôsobujú bronchodiláciu: sympatické<sup>4</sup> a parasympatické. Označenia liečiv vychádzajú z typických neurotransmiterov týchto receptorov. Typickým neurotransmitterom sympatického systému receptorov je adrenalín a parasympatického acetylcholín (preto sa na základe chemických procesov používajú pomenovania adrenergický a cholinergický systém). Agonisti sú látky, ktoré daný receptor stimulujú, antagonisti zase receptor blokujú. V *tabuľke 1* sú uvedené miesta výskytu a účinok pľúcnych receptorov. Liečivá sa teda rozdeľujú do piatich kategórií podľa ich pôsobenia.[6]

- Adrenergiká: Látky, ktoré stimulujú receptory sympatického systému, ktorého typický neurotransmitter je adrenalín.
- Antiadrenergiká: Liečivá, ktoré blokujú sympatický systém.
- Cholinergiká: Liečivá, ktoré stimulujú parasympatický systém, ktorého typický neurotransmitter je acetylcholín.
- Anticholinergiká: Liečivá, ktoré blokujú parasympatický systém.

Rozloženie receptorov v pľúcach a ich účinok je popísaný v *tabuľke 1*.

*Tabuľka 1: Popis distribúcie receptorov v dýchacom systéme a účinok ich stimulácie [6].*

Receptor	Výskyt	Účinok
<i>Alpha-1-adrenergické receptory</i>	Cievy v pľúcach	Zužovanie ciev
	Cievy v prieduškách	Zužovanie ciev
	Submukózne žľazy	Zvýšenie mukociliárnej aktivity
<i>Beta-2-adrenergické receptory</i>	Hladké svaly priedušiek	Bronchodilatácia
	Cievy v pľúcach	Vazodilatácia
	Cievy v prieduškách	Vazodilatácia
	Submukózne žľazy	Zvýšenie mukociliárnej aktivity
<i>M<sub>3</sub>-Muskarínové receptory</i>	Hladké svaly priedušiek	Bronchokonstrikcia
	Submukózne žľazy	Exocytóza, sekrécia

<sup>4</sup> Autonómny nervový systém, je systém, ktorý reguluje vnútorné funkcie ľudského tela a delí sa na sympatický a parasympatický oddiel. [9]



### **Adrenergické bronchodilatátory**

Adrenergiká sú najväčšou skupinou účinných látok spôsobujúcich bronchodilatáciu. Pôsobia okrem Beta-2 receptorov aj na Alfa-1 a Beta-1 receptory. Stimuláciou Alfa-1 receptorov spôsobujú vazokonstrikciu<sup>5</sup> a zvyšovanie krvného tlaku, stimuláciou Beta-1 receptorov (nachádzajúcich sa v srdci) zvyšujú tepovú frekvenciu a stimuláciou Beta-2 receptorov spôsobujú uvoľnenie hladkého svalstva bronchov, zvýšenie mukociliárnej aktivity a spomaľujú uvoľňovanie zápalových mediátorov [6]. Teda bronchodilatáciu spomedzi adrenergík spôsobujú iba Beta-2 agonisti, to znamená sympatiká stimulujúce Beta-2 receptory. Beta receptory sa v pľúcnom tkanive vyskytujú s vysokou koncentráciou a z nich približne 70 % sú práve Beta-2 receptory. Hustota výskytu Beta-2 receptorov v hladkom svalstve dýchacích ciest sa s postupným vetvením nemení, preto sú Beta-2 adrenergiká účinné pri astme, aj pri CHOCHP, ktorá postihuje aj koncové časti dýchacích ciest [10].

Adrenergické bronchodilatátory sa podľa trvania účinku delia na látky s veľmi krátkym účinkom, teda „ultra-Short-Acting Adrenergic Bronchodilator Agent“ (u-SABA), s krátkym účinkom, teda „Short-Acting Adrenergic Bronchodilator Agent“ (SABA) a s dlhotrvajúcim účinkom, teda „Long-Acting Adrenergic Bronchodilator Agents“ (LABA). Adrenergiká s krátkotrvajúcim účinkom sa využívajú ako záchranné látky v akútnych stavoch, ako sú astmatické záchvaty, a sú to napríklad epinefrín (adrenalin) a racemický epinefrín (u-SABA), či albuterol (SABA). Adrenergiká s dlhotrvajúcim účinkom sa využívajú na dlhšie zaistenie bronchodilatácie a prípadne na kontrolu bronchospazmov, či nočných astmatických záchvatov.[6]

### **Anticholinergické bronchodilatátory**

Mechanizmus ich účinku spočíva v blokade M<sub>3</sub> receptorov, ktorých stimulácia spôsobuje bronchokonstrikciu. Pri liečbe CHOCHP sú anticholinergiká rovnako účinné ako adrenergiká, avšak pri astme vykazujú nižší účinok [6, 10]. Muskarínové receptory sa nachádzajú v hladkom svalstve celých dýchacích ciest, avšak s väčšou hustotou vo vyšších častiach dýchacích ciest. Taktiež sa vyskytujú v epiteli dýchacích ciest a v submukózných žľazách. Muskarínový receptor spôsobujúci bronchokonstrikciu je M<sub>3</sub> receptor. Tvorbu hlienu podporuje stimulácia M<sub>3</sub> a M<sub>1</sub> receptorov. Stimulácia M<sub>3</sub> receptorov na endotelových bunkách spôsobuje vazodilatáciu [10]. Liečivami s dlhotrvajúcim účinkom, Long-Acting Muscarine Antagonist (LAMA), sú hlavne Tiotropium Bromid (užívanie raz za deň), Aclidinium Bromid (užívanie dvakrát za deň), či Glycopyrronium Bromid (užívanie raz za deň), ktoré sa v liečive často kombinujú s Beta-2 agonistami [6, 10, 11].

### **Inhalačné kortikosteroidy (IC)**

Kortikosteroidy sú hormóny, ktoré regulujú základné metabolické funkcie a majú protizápalový efekt. Kortikosteroidy, ktoré sa používajú na liečbu astmy alebo CHOCHP sú glukokortikoidy. Pôsobia na medzibunkové glukokortikosteroidové receptory (GR), ktoré sú dobre roz distribuované po pľúcach, respektíve vyskytujú sa takmer v každej bunke, no s najvyššou hustotou v endotelových a epitelových bunkách. Protizápalový účinok kortikosteroidov sa dostavuje omnoho pomalšie ako pri Beta-2,

---

<sup>5</sup> Vazokonstrikcia je zúženie ciev

teda v priebehu niekoľkých hodín až dňa. GR sú však veľmi časté aj mimo dýchacieho systému, a tak sú vedľajšie účinky kortikosteroidov (na kosti, pokožku, rast, cievy atď) obvyklé. Takýmto kortikosteroidom používaným inhalačne je napríklad Beklometazón dipropionát (BDP).

### **Mukolytiká**

Mukolytiká sú látky, ako N-acetyl-cysteín, ktoré ovplyvňujú viskozitu produkovaného hlienu a zlepšenie mukociliárneho čistiaceho mechanizmu.

### **Nesteroidové liečivá proti astme**

Liečivá ako Kromolyn sodný, spomaľujú odozvu žírnych buniek na alergické podnety a zabráňujú uvoľňovaniu histamínu a iných zápalových mediátorov, ktoré spôsobujú obštrukciu dýchacích ciest. Teda ich účinok je podobne ako u kortikosteroidov protizápalový.

## **2.1 Depozícia aerosólových častíc v ľudských pľúcach**

Pľúca sú postupne vetviaci sa systém s 23 generáciami vetvenia pripomínajúci obrátený strom. Konduktívnu časť, alebo inak dýchacie cesty (prvých 16 vetvení), tvorí priedušnica (Trachea), priedušky (Bronchy) a priedušničky (Bronchioly). Prechodovú a respiračnú časť tvorí ďalších 7 vetvení, kde dochádza ku kyslíkovej výmene. [8]

Či už je cieľom inhalácie liečba mimopľúcnych ochorení (tzv. systémových), alebo liečba pľúcnych chorôb, výsledný efekt je veľmi závislý od miesta depozície terapeutického aerosólu a taktiež od rýchlosti čistiacich mechanizmov, to znamená, či usadené liečivo stihne na danom mieste pôsobiť alebo sa vstrebať pred tým, ako je z pľúc vyčistené [8].

Vo všeobecnosti častice podliehajú piatim mechanizmom depozície, a to:

- Zotrvačnej impakcii,
- Gravitačnej sedimentácii,
- Brownovej difúzii,
- Intercepcii, či zakliesneniu,
- Elektrostatickej depozícii.

V pľúcach častice podliehajú najčastejšie mechanizmom zotrvačnej impakcie, gravitačnej sedimentácie a Brownovej difúzii. Elektrostaticky a intercepciou sa častice usadzujú iba v špeciálnych prípadoch. Podľa depozície častíc sa dýchací systém môže rozdeliť do troch častí. Prvou časťou sú tzv. hlavové dýchacie cesty, teda nos, ústa, hrtan a hltan. Druhou časťou je tracheobronchiálna oblasť (od trachey po terminálne bronchioly). Poslednou časťou je alveolárna oblasť, kde prebieha kyslíková výmena. Pri prúde vzduchu v respiračnom trakte sa rýchlosť vzduchu počas nádychu mierne zvyšuje až k bronchom. Následne však pri vetvení výrazne klesá kvôli obrovskému zväčšeniu celkového prierezu dýchacích ciest.[12]

Zotrvačnej impakcii podliehajú hmotnejšie častice, respektíve častice s väčšou hybnosťou. Dochádza k nej pri zmenách smeru prúdu, kedy tieto častice kvôli svojej hybnosti nie sú schopné kopírovať prúd vzduchu, ale z tohto prúdu vybočia a narazia o stenu. Faktor popisujúci pravdepodobnosť depozície zotrvačnou impakciou je tzv. Stokesovo číslo. [12, 13]



$$Stk = \frac{\rho_p d_p^2 u}{18\mu d}, \quad (1.)$$

kde  $d_p$  je priemer častice,  $\rho_p$  je uvažovaná hustota častice,  $u$  je stredná rýchlosť prúdu nosného plynu,  $\mu$  je dynamická viskozita tohto plynu a  $d$  je charakteristický rozmer, v prípade respiračnej depozície je to svetlosť dýchacích ciest. Čím je  $Stk$  väčšie, tým častejšie sú častice usadzované zotrvačnou impakciou. Tento mechanizmus dominuje v hlavových dýchacích cestách a najmä v mieste prvých bifurkácií tracheobronchiálneho stromu [12, 13].

Akonáhle sa prúd vdýchnutého aerosólu spomalí rozšírením celkovej svetlosti dýchacích ciest, depozícia častíc gravitačným usadzovaním nabera na dôležitosť. Maximálnu mieru dosahuje tento mechanizmus v horizontálne orientovaných dýchacích cestách, v koncových dýchacích cestách a alveolárnych priestoroch. Rýchlosť usadzovania častice pôsobením gravitácie je daná ako [13]:

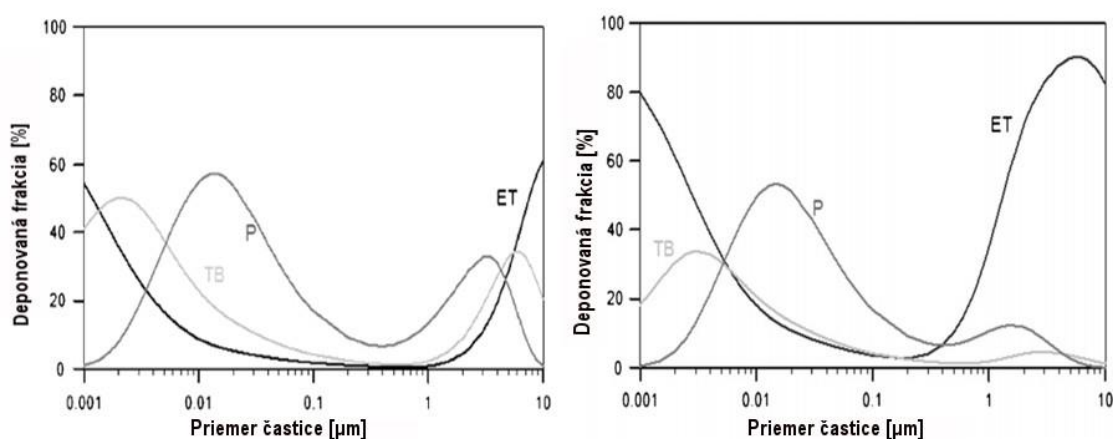
$$v_s = \frac{\rho_p d_p^2}{18\mu} g, \quad (2.)$$

kde  $g$  je gravitačné zrýchlenie. Tento mechanizmus je najúčinnnejší pre častice v rozmedzí od 1 po 8  $\mu\text{m}$ , pretože väčšie častice sa väčšinou v pľúcach usadzujú v dôsledku zotrvačnej impakcie a menšie v dôsledku Brownovej difúzie [12, 13].

Častice menšie ako 1  $\mu\text{m}$ , no väčšie ako 0,1  $\mu\text{m}$ , majú tendenciu opustiť pľúca spolu s vydýchnutým vzduchom. No častice menšie ako 100 nm deponujú v pľúcach veľmi dobre v dôsledku chaotického Brownovho pohybu spôsobeného zrážkami častíc s molekulami vzduchu. Tento pohyb zvyšuje pravdepodobnosť deponovania častíc v koncových častiach pľúc, pretože v týchto miestach sú rozmery pľúcnych priestorov veľmi malé, no rezidenčný čas pri prechode týmito miestami pomerne veľký. Miera depozície týmto mechanizmom je úmerná koeficientu Brownovej difúzie  $D_B$ :

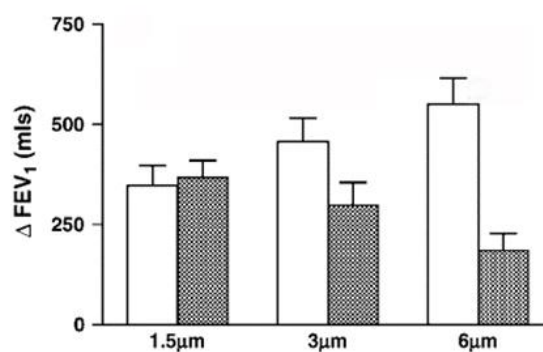
$$D_B = \frac{ckT}{3\pi\eta d_p}, \quad (3.)$$

kde  $c$  je Cunninghamov korekčný faktor,  $k$  je Boltzmannova konštanta a  $T$  je termodynamická teplota [12, 13].



Obrázok 3: Deponované frakcie v jednotlivých častiach dýchacieho systému v závislosti na rozmere častíc. Graf napravo znázorňuje prípad dýchania nosom, graf naľavo prípad dýchania ústami. Najtmavšia krivka označená ako ET reprezentuje horné dýchacie cesty (extrathroatic), krivka označená ako TB predstavuje tracheobronchiálny strom a krivka označená ako P predstavuje koncové časti pľúc. [14]

Na obrázku 2 [14] sú znázornené depozičné frakcie pre rôzne časti pľúc. V ciele inhalednej liečby je podstatná znalosť miest v pľúcach, na ktorých terapeutický aerosól vykazuje najvyšší účinok a znalosť, aké častice sú na liečbu vhodné. Zanen *et al.* [15] preto porovnával bronchodilatačný účinok aerosólu salbutamolu (Beta-2 agonista) a Ipratropium Bromidu ( $M_3$  antagonista) pri podaní troch rozdielnych monodisperzných aerosólov s MMAD (Mass Median of Aerodynamic Diameter)  $1,5\ \mu\text{m}$ ,  $2,8\ \mu\text{m}$  a  $5\ \mu\text{m}$  pacientom s ťažkou obštrukciou. Hoci muskarínové  $M_3$  receptory a adrenergické Beta-2 receptory nie sú rovnako roz distribuované v pľúcach, pri oboch liečivách bol bronchodilatačný účinok najväčší v prípade inhalácie aerosólu s MMAD  $2,8\ \mu\text{m}$ . [15] Podobný experiment vykonal taktiež Usmani *et al.* [16], pričom v tomto prípade bol inhalovaný monodisperzný rádioaktívne označený aerosól s MMAD  $1,5\ \mu\text{m}$ ,  $3\ \mu\text{m}$  a  $6\ \mu\text{m}$ . Pri tomto experimente bola najväčšia celková depozícia častíc u aerosólu s najmenšími časticami, avšak najväčšie zväčšenie jednosekundovej vitálnej kapacity ( $FEV_1$ ) nastalo v prípade aerosólu s najväčším MMAD. Pri experimente boli použité rôzne nádychové toky na porovnanie, teda pomalý (30 – 60 l/min) a rýchly (väčší ako 60 l/min). Pri porovnaní týchto výsledkov je viditeľné (na obrázku 3 [16]), aký dopad má rýchlosť prúdu na regionálnu depozíciu. Z týchto výsledkov sa dá usúdiť, že na posudzovanie efektivity inhalácie je nutné diskutovať o regionálnej depozícii a celková depozícia nie je dostačujúcou veličinou. Regionálna depozícia je veľmi silne ovplyvnená veľkostnou distribúciou častíc terapeutického aerosólu a dýchacím cyklom pri inhalácii. Taktiež veľký vplyv na regionálnu depozíciu má miera obštrukcie, prípadne iné aspekty ovplyvňujúce prúdenie vo vnútri pľúc. V prípade silnej obštrukcie je zrejmé, že v zúžených častiach dýchacích ciest sa na ich stenách usadia taktiež častice, ktoré by v zdravých pľúcach penetrovali do nasledujúcich častí dýchacieho systému. Vo všeobecnosti sa ale dá zhrnúť, že častice väčšie ako  $6\ \mu\text{m}$  sú deponované v horných



Obrázok 2: Porovnané zmeny jednosekundovej vitálnej kapacity pri pomalom nádychu s max. prietokom 30-60 l/min (biele stĺpce) a rýchlom nádychu s max. prietokom <60 l/min šrafované stĺpce [16].

dýchacích cestách a častice menšie ako 2  $\mu\text{m}$  deponujú v alveolárnej oblasti, takže rozmedzie veľkostí 2 – 6  $\mu\text{m}$  je najvhodnejšie na dosahovanie bronchodilatácie alebo na liečbu centrálnych a malých dýchacích ciest.[16]

## 2.2 Inhalačné systémy

Keďže téma vývoja inhalačných systémov, princípy aktuálne bežne používaných zariadení, konkrétne aplikácie a novinky boli podrobne popísané v autorovej bakalárskej práci, bude delenie a popis princípov inhalátorov iba stručné.

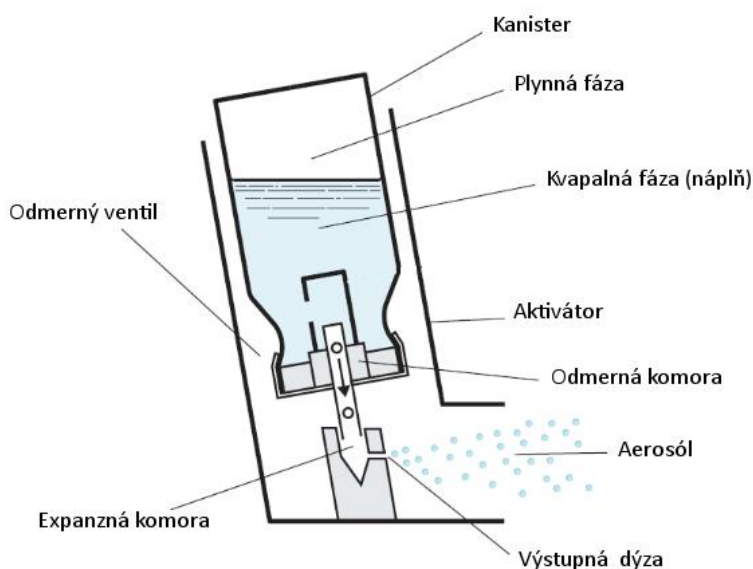
Bežne dostupné inhalačné systémy je možné rozdeliť do troch skupín:

- Aerosólové dávkovače,
- Nebulizéry,
- Inhalátory na práškovú formu lieku.

### 2.2.1 Aerosólové dávkovače

Aerosólové dávkovače, častejšie známe ako MDI (Metered Dose Inhalers) sú malé prenosné zariadenia, ktoré pri použití emitujú vopred presne odmerané množstvo dávky. Liečivo spolu s ďalšími komponentami je uložené v kovovom kanistri. V kanistri je spolu s liečivom natlakovaný hnací plyn (Hydrofluoroalkán – HFA), ktorý zabezpečuje emitovanie a disperziu aerosólu pri použití [8].

Podstatnou časťou tohto typu inhalátorov je odmerný ventil a odmerná komora. Tie zabezpečujú odmeranie presného množstva dávky na inhaláciu. Tento aparát pracuje s dvoma ventilmi na opačných stranách komory. Komora je naplnená hnacím plynom s liečivom a horný ventil zabezpečuje jej izoláciu od zvyšného obsahu kanistra, zatiaľ čo spodný ventil izoluje odmernú komoru od okolitého prostredia. Pri použití sa otvorí spodný ventil a vypustí skvapalnený hnací plyn, ktorý emituje veľkou rýchlosťou a hneď sa pri expanzii začne odparovať. Po použití sa spodný ventil uzavrie a otvorí sa ventil oddelujúci odmernú komoru od obsahu kanistra. Tak sa odmerná



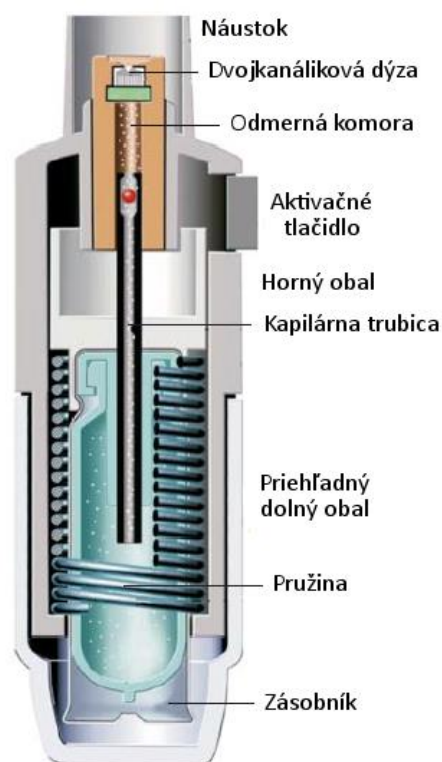
Obrázok 4: Popis kompozície typického MDI [16]

komora opäť naplní a pripraví sa tak presná dávka na ďalšiu inhaláciu. Otváranie ventilov je ovládané automatickým posunom kanistra pri aktivácii [8, 17, 18] Schéma je znázornená na *obrázku 4*.

Tieto zariadenia sú veľmi bežné, avšak veľmi náročné na koordináciu s nádychom pacienta. Hnací plyn spôsobuje, že liečivo je emitované zo zariadenia veľmi veľkou rýchlosťou a vo vzdialenosti 10 cm od trysky je priemerná rýchlosť aerosólu až 2 – 8,4 m/s [19]. Vysoké rýchlosti aerosólu zvyšujú náchylnosť na chyby v používaní, v zmysle väčšieho dopadu nasmerovania výstupnej trysky, umiestnenia jazyka v ústnej dutine pri inhalácii a celkovo zvyšujú depozíciu v horných dýchacích cestách [8].

### 2.2.2 Respimat SMI

Zariadenie Respimat SoftMist (*obrázok 5*) je múdрым riešením komplikácií spôsobených vysokou rýchlosťou emitovaného aerosólu pri tlakových aerosólových dávkovačoch. Je akýmsi prechodom medzi nebulizérom a aerosolovým dávkovačom, kde výstupný aerosól vzniká rozprášením kvapalného liečiva, avšak pri aktivácii je emitovaná jeho presne odmeraná dávka. Na nebulizáciu je ale na rozdiel od bežných MDI využitá mechanická energia stlačenej pružiny [8]. Tá pri uvoľnení vytlačí roztok cez dvojkanálovú dýzu s kanálmi nasmerovanými proti sebe pod presným uhlom, čo spôsobí rozprášenie aerosólu s nízkou rýchlosťou. Emitovanie liečiva trvá celkovo viac ako 1,2 s, pričom u bežných MDI zariadení sa tieto časy pohybujú v rozmedzí od 0,15 až 0,36 sekundy [8].



Obrázok 5: Schéma zariadenia Respimat SMI (Boehringer Ingelheim) [8]

### 2.2.3 Inhalátory na práškovú formu lieku

Inhalátory na práškovú formu lieku sú malé prenosné zariadenia, ktoré obsahujú práškovú zmes v rôznych podobách. Podľa typu zásobníka sa členia na jednodávkové (Single-dose), inhalátory s viacjednotkovou dávkou (Multi-unit dose) a viacdávkové inhalátory. V prípade jednodávkových inhalátorov sa pred každým použitím do zariadenia vloží kapsula so zmesou liečiva. Následne je prepichnutá príslušným mechanizmom zariadenia, a tým sa umožní inhalácia prášku z kapsule (napr. Breezhaler, Novartis). Ďalšou generáciou práškových inhalátorov sú zariadenia s viacjednotkovým zásobníkom, to znamená, že obsahujú blister s viacerými odmeranými dávkami liečiva. Pri použití sa kapsula na blistri prepichne príslušným mechanizmom a po použití sa blister posunie tak, aby bola nachystaná ďalšia kapsula na nasledujúce použitie (napr. Diskhaler, GlaxoSmithKline). Poslednou skupinou inhalátorov pre práškovú formu lieku sú zariadenia s viacdávkovým zásobníkom, ktoré obsahujú nádobku, kde je uskladnená celá prášková zmes a pred použitím je pomocou príslušného mechanizmu odmeraná. [8, 20]

Veľmi dôležitou témou pri inhalátoroch na práškovú formu lieku je deaglomerácia zhlukov práškových častíc. Na častice v prášku pôsobí množstvo adhézných síl, či už ide o beznosičovú formuláciu alebo zmes s nosičmi. Tie držia častice v zhlukoch, bránia tak vhodnej disperzii, čím znižujú frakciu spektra častíc, ktorá sa dostane do pľúc, teda Fine Particle Fraction<sup>6</sup> (FPF). Toto rozbíjanie hľukov sa docieľuje zvyšovaním odporu zariadenia, a tak inspiračný prietok a odpor inhalačného zariadenia sú dve veľmi dôležité veličiny, ktoré majú zásadný dopad na účinnosť inhalátora. Je teda vhodné implementovať do dizajnu inhalátora prvky, ako sú napr. vírové komory, ktoré využijú energiu prúdu inspiračného vzduchu na vznik turbulentného prúdenia a teda odporových, zotrvačných a šmykových síl, a zabezpečia tak následnú deaglomeráciu zhlukov častíc. Takto navrhnuté zariadenia majú väčší odpor voči nádychu, ale vykazujú väčšiu mieru depozície častíc v pľúcach. Túto závislosť ukazuje *tabuľka 2* nižšie, kde je badateľné, že (niektoré) zariadenia s väčším odporom voči inhalačnému prúdu vzduchu vykazujú vyššie FPF. [21]

*Tabuľka 2 Znázorňuje hodnoty odporov DPI a zároveň ich FPF, pričom je možné si všimnúť závislosť medzi týmito parametrami.[21]*

Zariadenie	FPF definovaná ako:	FPF [%]	Inhalačný odpor	FPF ako funkcia Inh. odporu
Seretide Diskus	< 5 µm	20 — 25	Stredný až nízky	Mierne rastúca
Salbutamol Cyclohaler	< 5 µm	20 — 30	Nízky	Rastúca
Oxis Turbohaler	< 5,8 µm	35 — 40	Stredný až vysoký	Rastúca
Symbicort Turbuhaler	< 5 µm	40 — 45	Stredný až vysoký	Rastúca
Formatis Novalizer	< 5 µm	40 — 45	Stredný až nízky	Rastúca
Rolenium Elpenhaler	< 5 µm	15 — 20	Stredný až nízky	Konštantná
Fostair NEXThaler	< 5 µm	35 — 40	Stredný až vysoký	Konštantná
Foradil Aerolizer	< 5,8 µm	25 — 30	Nízky	Rastúca
Onbrez Breezhaler	< 5 µm	35 — 40	Nízky	Konštantná
Seebri Breezhaler	< 5 µm	32 — 52	Nízky	Konštantná
Ekliira Genuair	< 5 µm	35 — 40	Stredný až nízky	Mierne rastúca
Spiriva HandiHaler	< 5 µm	15 — 20	Vysoký	Konštantná

Bežne dostupné DPI sú zariadenia pasívne a disperzia aerosólu je spôsobená čisto nádychom pacienta. Na trhu sa už ale objavili aktívne inhalátory na práškovú formu liečiva, ktoré na rozprášenie aerosólu využívajú interné zdroje energie, ako sú batérie alebo stlačený vzduch. Takéto zariadenia sa však neuchytili kvôli cene, objemnosti a používateľskej zložitosti. [22] Spomedzi DPI sú v tejto práci experimentálne premerané dve zariadenia: Brimica Genuair a Fostair Nexthaler.

<sup>6</sup> Fine Particle Fraction (FPF) označuje frakciu častíc z celého spektra, ktoré sú menšie ako 5 µm, teda sa predpokladá, že sa dostanú za horné dýchacie cesty a teda budú terapeuticky účinné.

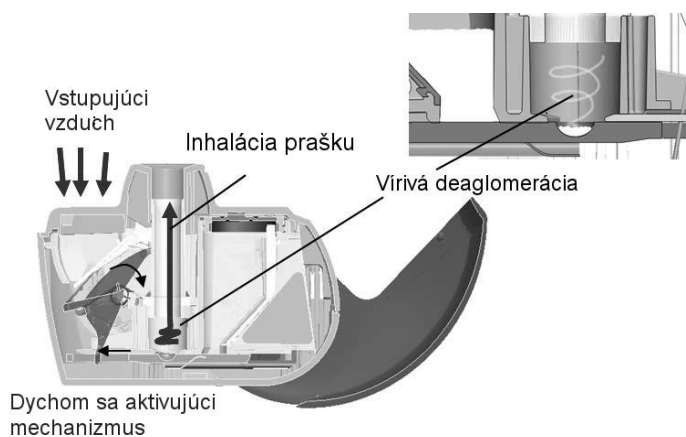
### **Brimica Genuair**

Genuair je viacdávkový inhalátor na práškovú formu lieku so stredným odporom, ktorý bol vyvinutý zo zariadenia Novalizer. Prášok v Brimice obsahuje kombináciu aklinídia bromidu (LAMA) a dihydrátu formoterolu fumarátu (LABA). Náustok Genuairu je vybavený cyklónovou disperznou komorou, ktorá zlepšuje deaglomeráciu častíc pri inhalácii. Je to viacdávkové zariadenie, regulované podľa prietoku nádychu. Inhalácia liečiva je tak umožnená až po prekročení spodnej prietokovej hranice. [8, 23] Pred použitím tohto zariadenia je nutné stlačiť tlačidlo na vrchnej strane zariadenia, čím sa inhalátor odistí (z rezervoára sa odoberie odmeraná dávka prášku) a umožní tak inhaláciu. Tento inhalátor je vybavený mechanizmom, ktorý pri dosiahnutí požadovaného prietoku vydá zvukový signál, jemné cvaknutie, a tak informuje pacienta o správnej inhalácii. Na prednej strane inhalátora sa nachádza kontrolka, ktorá mení farby medzi zelenou a červenou. Zelená je vo chvíli, keď je zariadenie pripravené na inhaláciu a červená, keď je zaistené, respektíve v prípade, ak bola posledná inhalácia vykonaná správne [23, 24].

### **Fostair NEXThaler**

NEXThaler (obrázok 6) je moderné zariadenie na inhaláciu práškovej formy lieku, ktoré obsahuje kombináciu inhalačného kortikosteroidu beklometazón dipropionát a dihydrát formoterol fumarátu (LABA). Vo vnútri NEXThaleru sa nachádza dezikant na ochranu prášku pred vlhkosťou okolitého prostredia.[8] Pod rezervoárom, v ktorom je prášok s liečivom uložený, je

umiestnený pohyblivý plátok s komôrkou na odobranie dávky. Pri otvorení krytu sa plátok posunie pod cyklón, kde je kontrolovaný mechanizmom, ktorý umožní jeho disperziu až pri dosiahnutí požadovaného prietoku. [8, 24]

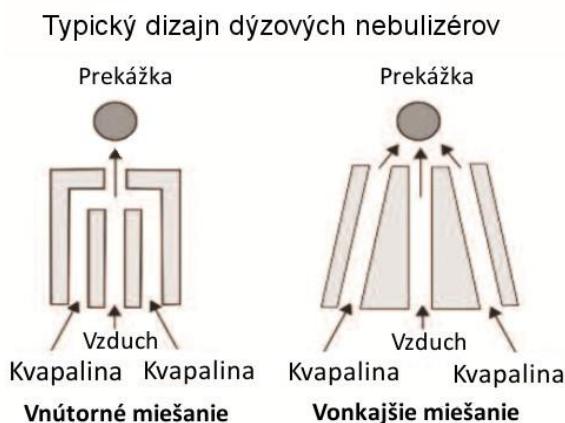


Obrázok 6: Mechanizmus inhalátora NEXThaler. [8]



## 2.2.4 Nebulizéry

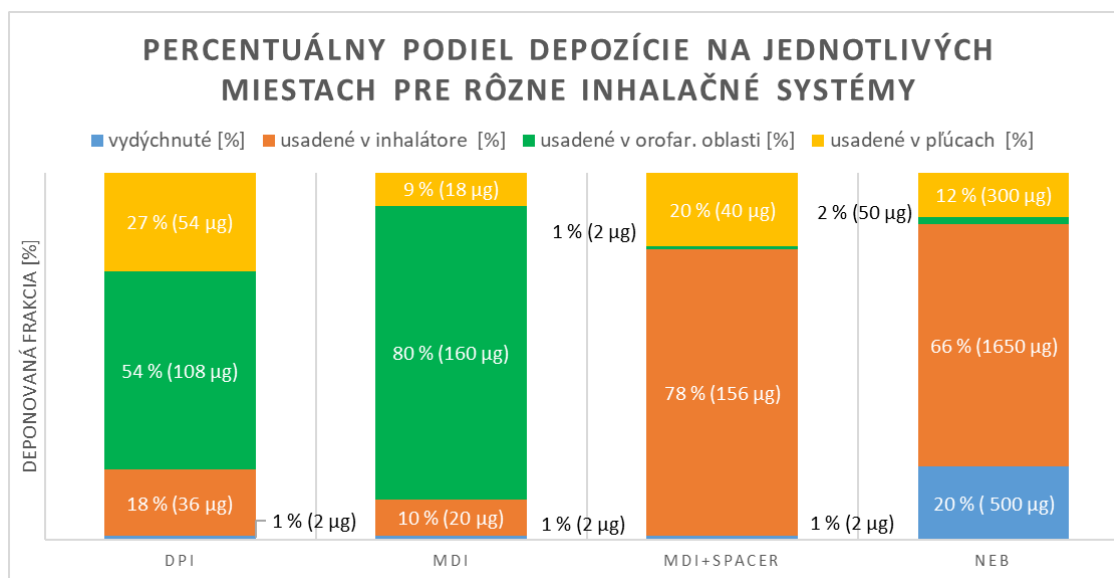
Nebulizéry sú neprenosné zariadenia, ktoré rôznymi spôsobmi rozprašujú kvapalné liečivo na terapeutický aerosól. Bežne sa používajú tri základné technológie tvorby kvapalnej disperzie. Najčastejšou metódou nebulizácie je využitie Venturiho efektu v dýzových nebulizéroch. Tie sa skladajú z vaničky s kvapalinou, ktorá má v strede dýzu napojenú na kompresor. Na dýzu je s vôľou uložený otvorený kryt, ktorý umožňuje prívod kvapaliny až k vrchu dýzy. Pri spustení kompresoru sa vďaka Venturiho efektu vytvorí medzi krytom a dýzou podtlak, a tak vznikne v tomto priestore film z kvapalného liečiva. Kvapalina sa pri kontakte s urýchlenným prúdom vzduchu z dýzy pomocou šmykových síl „roztrhá“ na aerosól. Typický dizajn popísaný vyššie je znázornený na obrázku 7. Pred výstup z dýzy sa umiestňuje prekážka, ktorá zachytáva najväčšie častice, ktoré sa tak vracajú do roztoku vo vaničke a môžu byť opäť rozprašené.



Obrázok 7: Typický dizajn dýzových nebulizérov.

Ďalším typom sú ultrazvukové nebulizéry, ktoré majú piezoelektrické prvky vytvárajúce v kvapaline vysokofrekvenčné vibrácie (1–3 MHz). Takto vzniknuté vlnenie v kvapaline vytvára na hladine aerosól. Vysokofrekvenčné vlnenie však zahrieva kvapalinu, preto zariadenia nie sú vhodné pre termolabilné liečivá. Veľkostná distribúcia častíc vzniknutého aerosólu je ovplyvňovaná frekvenciou, viskozitou kvapaliny a povrchovým napätím [8, 25].

Poslednou z vymenovaných troch konvenčných možností nebulizácie je využitie vibračnej mriežky. V týchto zariadeniach prechádza kvapalné liečivo cez plát s množstvom otvorov, ktorý súčasne vibruje, čím dochádza k tvorbe aerosólu. Mriežka je rozvibrovaná piezokryštalickými prvkami, prípadne ultrazvukovým rohom. Tieto zariadenia sú pomerne komplikované a drahé, a pri používaní náchylné na upchatie otvorov.[8, 25]



Obrázok 8: Znáročňuje rozloženie depozície albuterolu medzi rôzne miesta trate pri inhalácii rôznymi inhalačnými systémami. [6]

## 2.3 Spoľahlivosť inhalátorov a bežné chyby v ich používaní

Bohužiaľ, inhalačná liečba veľmi často troskotá na nesprávnych inhalačných technikách a nedostatočnom poučení pacienta o správnom použití. Výsledná účinnosť zariadenia je teda výrazne variabilná a jej výkyvy nehovoria priamo o nespoľahlivosti zariadenia. Je však v záujme výrobcov čo najviac eliminovať možnosť chybného použitia zariadenia, napríklad informovaním pacienta o neúplnej inhalácii, či úpravou požadovaného prietoku na uvoľnenie prášku v prípade DPI. Podľa rešeršnej práce zo zdroja [26] celková prevencia správnej inhalačnej techniky v 40-ročnom období (1975 – 2014) je 28 – 37 %, prevencia akceptovateľnej techniky 36 – 47 % a nedostačujúcej 27 – 36 %. Z toho vyplýva, že nedostatočná inhalačná technika je až príliš častá a tento údaj sa podľa tohto zdroja [26] za posledných 40 rokov výrazne nezmenil. Zdroj [27] navyše uvádza, že až 28 – 68 % pacientov nepoužíva DPI alebo MDI správne, a až 39 – 67 % doktorov a zdravotných sestier nie je schopných vhodne popísať dôležité kroky inhalačných technik [27]. Komplikácie v dopravovaní liečiva do pľúc sa líšia medzi jednotlivými typmi inhalačných prístrojov, a tak sa líšia aj inštrukcie a požiadavky na ich používanie. Percentuálne rozdelenie depozície medzi jednotlivé miesta pri inhalácii je znázornené na obrázku 9 a ukazuje, ako veľmi záleží na type inhalátora.

Správne inhalačné techniky sa líšia medzi typmi zariadení, preto môže byť pre pacienta náročné prispôbiť sa príslušným požiadavkám [6]. V prípade MDI je postup pri použití nasledovný:

1. Ohriať kanister zariadenia v ruke na telesnú teplotu a potrepať so zariadením.
2. V prípade, že zariadenie nebolo použité dlhšiu dobu, mala by byť jedna dávka vypustená naprázdno do vzduchu.
3. Otvoriť náustok a ubezpečiť sa, že v náustku nie sú žiadne objekty, ktoré by mohli brániť prúdu aerosólu a spôsobiť tak straty v zariadení.
4. Otvorenie úst: Ústnu dutinu treba otvoriť naširoko a jazyk držať pri inhalácii čo najnižšie. Zariadenie držať vo vertikálnom smere.



5. Umiestniť zariadenie asi 4 cm pred ústnu dutinu a nasmerovať náustok smerom k otvoreným ústam. (Táto časť je väčšinou inštruovaná tak, aby pacient vložil náustok do úst a zovrel perami. Rozdiel je vysvetlený nižšie.)
6. Vydýchnuť.
7. Následne začať pomalý nádych ( $<0,5$  l/sek) a súčasne aktivovať zariadenie.
8. Pokračovať v nádychu až po dosiahnutie celkovej kapacity pľúc TLC.
9. Zadržať dych do 10 s, následne uvoľniť a normálne vydýchnuť.
10. Medzi dávkami počkať jednu minútu.
11. Zatvoriť náustok.[6]

Pri použití DPI zariadení musí pacient postupovať podľa nasledujúcich krokov:

1. Odstrániť ochranný kryt náustku.
2. Odistiť zariadenie príslušným mechanizmom, a tak ho pripraviť na inhaláciu.
3. Otočiť hlavu mimo zariadenia a vydýchnuť do vzduchu. (Pri výdychu do zariadenia by hrozila zmena vlastností prášku v dôsledku zvlhčenia.)
4. Priložiť zuby a pery na náustok tak, aby nemohol popod pery prúdiť vzduch. Usilovným nádychom vdýchnuť aerosól.
5. Zadržať dych na 5 až 10 sekúnd alebo tak dlho, ako je možné. [26]

### 2.3.1 Faktory ovplyvňujúce účinnosť aerosólových dávkovačov

U niektorých pacientov môže inhalácia studeného aerosólu, ktorý vystupuje z MDI, spôsobiť stiahnutie priedušiek v dôsledku náhleho kontaktu s výrazne studenším vzduchom. Preto u ľudí, ktorí nosia zariadenie vo vonkajších vreckách oblečenia alebo ho inak vystavujú nízkym teplotám, je účinnosť dopravovania liečiva výrazne menšia, ako v prípade, že je to isté zariadenie držané v izbovej teplote. U zariadení využívajúcich HFA hnacie plyny je tento vplyv nižší ako u starších CFC (Chlóro Fluor Karbón) hnacích plynov. [6] U niektorých pacientov sa môže stať, že v momente, keď sa studený aerosól z MDI dotkne zadnej steny ústnej dutiny, pacient kvôli náhlemu ochladeniu nedokáže pokračovať v inhalácii. Medzi použitiami aerosólových dávkovačov by mala byť časová pauza minimálne pol minúty z dôvodu, že pri použití sa hnacím plynom ochladzuje samotné zariadenie, a to ovplyvňuje vlastnosti výstupného aerosólu. Pri spomínanej odmlke má zariadenie možnosť opätovne sa ohriať na pôvodnú teplotu. [6]

Rozmery trysky, cez ktorú je aerosól emitovaný do okolitého prostredia, sú dané výrobcom a taktiež ovplyvňujú účinnosť aerosólovej liečby. Takisto však sú vlastnosti aerosólu ovplyvňované nečistotami usadenými na dýze alebo v náustku, ktoré môžu znižovať výstupnú dávku, a preto je nutné udržiavať zariadenie v čistote a pri čistení dodržiavať pokyny výrobcu.[6]

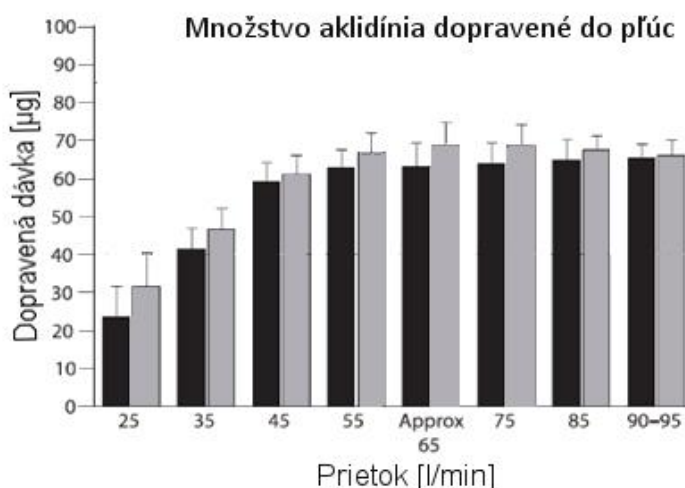
Pred použitím by mal pacient so zariadením zatriasť a vypustiť minimálne jednu dávku do vzduchu v prípade, že zariadenie je nové alebo nebolo používané dlhšiu dobu. Tento úkon slúži na lepšie premiešanie liečiva vo vnútri kanistra. To mohlo byť počas dlhodobej nečinnosti sedimentované a separované od zvyšku obsahu.[6] Napriek tomu, že vo väčšine prípadov je pacient inštruovaný, aby pred inhaláciou zovrel perami náustok, merania ukázali, že umiestnenie trysky zariadenia približne 4 cm pred ústnu dutinu umožní spomalenie častíc, zníži depozíciu v orofaryngeálnej oblasti a zvýši depozičnú frakciu pľúc [6, 28]. Avšak hoci takáto inhalačná technika znížila ústnu depozíciu, klinická bronchodilatačná odozva ostala nezmenená. Pri horšej koordinácii pohybov sa navyše môže stať, že sa liečivo môže dostať do pacientových očí. Nielenže vysoká miera depozície častíc v ústnej dutine znižuje účinnosť liečby, ale v prípade

inhalácie liečiv obsahujúcich steroidy môže pri vysokej orofaryngeálnej depozícii dôjsť k infekciám, prípadne zmenám hlasu. Takéto liečivá je teda nutné užívať s prídavnými zariadeniami, ako sú spacers a chambery, ktoré predlžujú vzdialenosť zariadenia od ústnej dutiny a spomaľujú aerosól. [6]

### 2.3.2 Faktory ovplyvňujúce účinnosť inhalátorov na práškovú formu lieku

DPI zariadenia vykazujú najlepšiu účinnosť iba pri dosiahnutí konkrétnych prietokov, a tak FPF týchto zariadení sa v závislosti od prietoku môže meniť v rozmedzí 10 – 60 %. Zmena FPF v závislosti od inhalačného prietoku je znázornená na *obrázku 9*. Vyšší odpor zariadenia zabezpečuje väčšinou lepšiu deaglomeráciu aerosólových častíc, no môže brániť u niektorých pacientov dosiahnuť požadovaný prietok pre inhaláciu pri maximálnej FPF [6].

Vlhké prostredie podporuje aglomeráciu častíc aerosólu a mení ich parametre. Takéto zhluky častíc majú problém dostať sa pri nádychu zo zariadenia, a tak je so zvyšovanou vlhkosťou znižovaná dávka liečiva.



Obrázok 9: Množstvo do pľúc dopravenej účinnej látky zariadenia Genuair (aclidinium bromide) v závislosti od inhalačných prietokov. Čierne stĺpce predstavujú prípad pri inhalovanom objeme 2 l, šedé pri objeme 4 l. [23]

### 2.3.3 Faktory ovplyvňujúce účinnosť dýzových nebulizérov

Hlavným faktorom účinnosti nebulizérov je ich dizajn. Veľkosť a množstvo prekážok, ktoré sú umiestnené za dýzou na zachytávanie príliš veľkých častíc, sú kľúčovým prvkom nebulizérov. Vlastnosti častíc, okrem iného určuje aj prietok stlačeného vzduchu, v zmysle, že čím je prietok väčší, tým je MMAD menšie [6]. Tlak vzduchu, ktorý slúži na nebulizáciu roztoku, určuje veľkostnú distribúciu častíc. Väčší tlak vzduchu vytvorí menšie častice, a tak je požadovaný čas liečby kratší. Tieto rozdiely sú značné pri porovnaní nebulizérov použitých v nemocnici a zariadení na domáce použitie. Nebulizér s tlakom vzduchu 344,7 kPa (teda 50 psi) a prietokom 6 – 10 l/min produkuje aerosól s MMAD 2,5 µm môže pri domácom použití a tlaku 68,9 kPa (10 psi) produkovať aerosól s MMAD 5 µm. Zanedbanie čistenia nebulizéru môže spôsobiť zásadné zmeny vo výstupe pri upchatí priestoru, ktorým prechádza roztok pri nebulizácii.

Zaujímavý je vplyv hustoty nosného plynu. Platí, že čím má nosný plyn nižšiu hustotu, tým sa znižuje orofaryngeálna depozícia a zvyšuje usadzovanie v pľúcach.

Kvôli tomu sa môže používať zmes He-O<sub>2</sub> (tzv. heliox). Bohužiaľ, táto zmes zhoršuje nebulizáciu a pri jej použití je potrebný dvakrát až trikrát väčší prietok na dosiahnutie rovnakého výstupného aerosólu ako pri vzduchu, či kyslíku.

Ochladzovanie roztoku v nebulizéri spôsobuje zmenu viskozity. Teda s chladnejším roztokom rastie veľkosť častíc. V dôsledku vysokej vlhkosti dochádza ku kondenzačnému rastu častíc, čo môže viesť k ich koagulácii, a taktiež zväčšeniu MMAD. [6, 8]

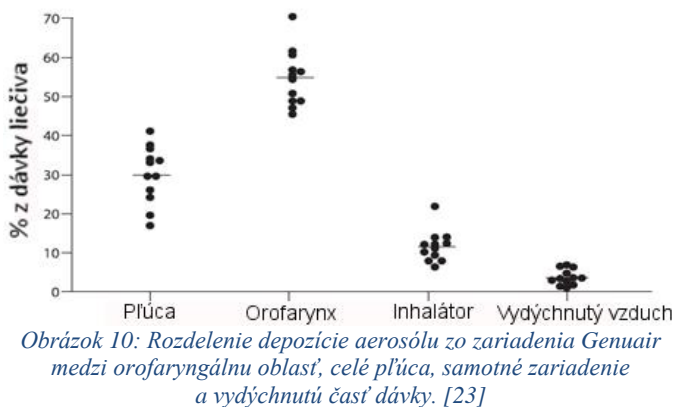
### 2.3.4 Vplyv inhalačných prietokov

Pre správnu inhaláciu sa taktiež líšia požadované prietoky pre rôzne zariadenia. Táto problematika spočíva v správnom určení kritického prietoku, pri ktorom účinnosť zariadenia dramaticky klesá a nad akým prietokom zostáva stabilná, a taktiež v nacvičení dosahovania tohto prietoku u pacientov. Udávanie týchto informácií o prietokoch výrobcom stále nie je samozrejmosťou [29]. V prípade MDI by mala byť inhalácia pomalá, avšak pri týchto zariadeniach taktiež jestvuje dolná hranica prietoku, pod ktorú by inhalačný prietok poklesnúť nemal. Z meraní troch MDI zariadení na NGI (Next Generation Impactor) pri rôznych prietokoch vyplynulo, že pri inhalačnom prietoku 15 l/min bola depozičná frakcia orofaryngeálnej oblasti väčšia ako pri prietoku 30 l/min. Z toho vyplynulo, že prietoky pri inhalácii z aerosólových dávkočavov by mali byť väčšie ako 15 l/min a nemali by určite poklesnúť pod 10 l/min [29, 30]. Pri dychom aktivujúcich sa zariadeniach je tento požadovaný inhalačný prietok zabezpečený výrobným nastavením, ktoré spustí mechanizmus emitovania aerosólu až pri dosiahnutí požadovanej hodnoty.[29] Tieto hodnoty vhodných prietokov sú však rozdielne medzi jednotlivými zariadeniami a pri niektorých zariadeniach meranie pri prietoku 60 l/min vykázalo väčšiu FPF ako pri 30 l/min. [29]

Spomedzi DPI bude v tejto práci pojednávané iba o zariadeniach premeraných v tejto diplomovej práci, teda o inhalátoroch Brimica Genuair a Fostair Nexthaler. V prípade zariadenia Genuair je klinicky účinná frakcia, teda FPF, nemenná pri prietokoch v rozmedzí 45 – 95 l/min, ale už pri prietokoch väčších ako 35 l/min je dávka vypustená [23, 29].

Spôľahlivosť tohto zariadenia bola podľa zdroja [23] určovaná porovnávaním dopadu rôznych prostredí, ktorým bolo zariadenie vystavené na určitú dobu (v chladnom prostredí s teplotou 2 – 8 °C na 3 až 8 dní; vlhkom prostredí s RH 75 % a teplotou 40 °C na dobu 3 až 8 dní; v horúcom prostredí s teplotou 60 °C na dobu 1 až 6 hodín; vo vibrujúcom prostredí s amplitúdou 1,5 mm/g po dobu jednej hodiny).

Zariadenia plnili požiadavky aj po pôsobení všetkých týchto namáhání [23]. Podľa *in vivo* meraní depoziície pri využití gama scintigrafie bol určený podiel aerosólu usadený v orofaryngeálnej oblasti  $54,7 \pm 7,2$  % a celých pľúcach  $30,1 \pm 7,3$  % pri prietokoch  $79 \pm 9,4$  l/min.[23] Rozdelenie depoziície častíc z tohto merania je znázornené na obrázku 10.[23]



Ďalším DPI zariadením analyzovaným v tejto práci je Fostair Nexthaler. Toto zariadenie obsahuje špeciálny dychom aktivujúci sa mechanizmus, ktorý sa spúšťa pri inhalačnom prietoku 35 l/min. FPF nameraná pri prietokoch 30 l/min a 90 l/min bola 54,5 % a 67,6 %. Dosiahnutie FPF vyššej ako 50 % je veľký úspech. [8, 24, 29] NEXThaler je podobne ako Genuair vybavený zvukovou, aj vizuálnou signalizáciou správnej inhalácie. [24]

### 3 Experimentálne metódy na meranie parametrov inhalačných zariadení

V predchádzajúcich kapitolách bol objasnený vplyv parametrov liečivého aerosólu a vysvetlené, ktoré parametre najviac ovplyvňujú účinok liečby. Ich experimentálne testovanie však prináša množstvo obmedzení a výziev, a tak je v používaných technikách neustály progres. Vo všeobecnosti môžeme experimentálne metódy na meranie veľkosti častíc aerosólu rozdeliť podľa druhu rozmeru, ktorým je častica pri meraní charakterizovaná. Keďže aerosólové častice sú len veľmi zriedka sférické, na určenie ich rozmerov sa využívajú rôzne ekvivalentné priemery. Jedným takýmto ekvivalentným rozmerom je *aerodynamický priemer* častice ( $D_{\text{aer}}$ ). Ten je definovaný ako priemer dokonale sférickej častice s hustotou vody, ktorá má rovnaké zotrvačné vlastnosti (rýchlosť usadzovania) ako meraná častica.[31] Na určovanie veľkosti častíc je však  $D_{\text{aer}}$  užitočný iba v prípade častíc väčších ako  $0,5 \mu\text{m}$ , pretože pri menších časticách zotrvačné účinky nehrajú výraznú rolu a prevládajú účinky difúzne. Takto malé častice sa definujú tzv. *difúznym priemerom*, ktorý predstavuje priemer častice s rovnakým difúznym koeficientom ako má meraná častica [31]. *Priemer elektrickej mobility* je rozmer sférickej častice s rovnakou elektrickou mobilitou ako meraná častica [31]. *Stokesov priemer* je priemer sférickej častice s rovnakou hustotou a zotrvačnými účinkami (rýchlosťou usadzovania) ako zisťovaná častica [31]. Ďalším zaužívaným ekvivalentným priemerom je *optický priemer*, ktorý predstavuje priemer častice, ktorá vyvolá rovnakú odozvu v meraní svetelným odrazom ako meraná častica [31]. V prípade určovania vlastností terapeutických aerosólov je najčastejšie zisťovaný aerodynamický priemer (Impaktory, APS) a optický priemer častice (PDA, PIV, OPC<sup>7</sup>).

#### 3.1 Impaktory

V roku 1955 bol spoločnosťou Rieker laboratories (dnes 3M Pharmaceuticals) predstavený prvý aerosólový dávkovač, čo môže byť považované za zrod inhalačných systémov v podobe, ako ich teraz poznáme. To však vytvorilo potrebu testovania týchto zariadení a overovania ich účinnosti. Preto sa v Riekerových laboratóriách na tento účel sprvoti začala využívať metóda svetelnej difrakcie krátko po predstavení prvého MDI. Nezávisle od toho v roku 1958 bol prvýkrát predstavený šesťstupňový Andersenov kaskádový impaktor, avšak jeho využitie na meranie terapeutických aerosólov bolo prvý krát spomenuté až v roku 1969 [32]. Jeho osemstupňová verzia bola uvedená až v roku 1971. V roku 1966 bol vyvinutý Viacstupňový kvapalinový odlučovač (Multistage Liquid Impinger), ktorý pracuje na rovnakom princípe, akurát častice deponujú priamo do rozpúšťadla, pričom jeho využitie na farmaceutické účely bolo taktiež popísané až dodatočne. Prvým zariadením vyvinutým vyslovene s cieľom testovania terapeutických aerosólov z inhalačných systémov je Marple-Miller impaktor, ktorý namiesto zberných plátok obsahuje zberné nádoby [32]. Následne, v 90. rokoch

---

<sup>7</sup> PDA – Phase Doppler Anemometry

PIV – Particle Image Velocimetry

OPC – Optical Particle Counter

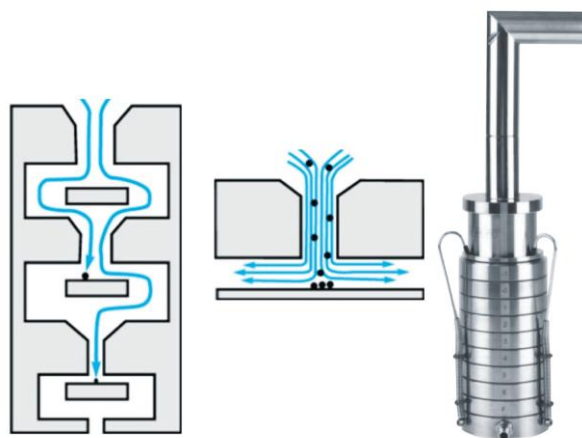
minulého storočia, bol na základe užívateľských požiadaviek vyvinutý Next Generation Impaktor, ktorý je určený na meranie inhalovaných aerosólov a výrazne uľahčuje testovanie ich parametrov [32]. Viacstupňový kaskádový impaktor rozdeľuje skúmanú vzorku na základe rozdielov v zotrvačnej sile pôsobiacej na častice aerosólu. Impaktor pozostáva zo série stupňov, kde každý je tvorený plátkom s presným usporiadaním otvorov podľa veľkosti a zberných plôch. [33] Na účely merania terapeutických aerosólov sa tiež využívajú skrátené impaktory, s menším počtom stupňov prípadne rozdeľujúce aerosól iba na nevdýchnutelnú a vdýchnutelnú frakciu.

### 3.1.1 Andersenov kaskádový impaktor (ACI)

Vzduch so skúmanou vzorkou aerosólu je pomocou vývevy nasávaný s presne definovaným, konštantným objemovým tokom postupne cez všetky stupne. Rozmery otvorov aj celkového vnútorného objemu jednotlivých stupňov sa zmenšujú s každým ďalším stupňom avšak tok je stále konštantný, takže častice aerosólu nadobúdajú zmenšujúcimi sa rozmermi postupne stále väčšiu rýchlosť. Na každom poschodí impaktora sa častice s väčšou hybnosťou vymania z prúdu a dopadajú na zberné plochy.[33] Najväčšie častice sa teda usadia hneď

na prvých zberných plochách, zatiaľ čo malé sa dostanú do posledných stupňov impaktora. Výsledkom teda je veľkostne zoradená séria vzoriek, ktorá býva ďalej analyzovaná, napríklad kvapalinovou chromatografiou (HPLC). Keďže výsledky merania impaktorom sú závislé ako od rozmerov otvorov, tak aj od rýchlosti toku vzorky, musia byť priemery otvorov špecifikované, vyrobené a taktiež zmontované s vysokou presnosťou a miera toku musí byť precízne kontrolovaná. Pre dosiahnutie správnych hodnôt je takisto veľmi dôležité zabezpečiť tesnosť zariadenia. [33] Postupy používania aj pre MDI, aj pre DPI sú popísané v európskom a americkom liekopise. Ich stručná interpretácia pre prípad merania na Andersenovom kaskádovom impaktore je uvedená nižšie. Schematický princíp impakcie a dizajn Andersenovho kaskádového impaktora je znázornený na obrázku 11.

V liekopise [34] je Andersenov kaskádový impaktor označovaný ako prístroj D. Metódy merania, ako aj aparatúry, sú odlišné pre aerosólové dávkovače a pre inhalátory s práškovou formou lieku. V zostave na meranie aerosólových dávkočov je vstupný diel pripojený k impaktoru pomocou kužeľového vstupu a táto zostava je používaná pre prietoky 28,3 l/min. V prípade aparatúry na meranie inhalátorov pre práškovú formu lieku sa využívajú prietoky 60 a 90 l/min a namiesto vstupného kužeľa sa použije predseparátor, ktorý oddelí nevdýchnutelné častice. Pre každý prietok sa zostava líši a je nutné použiť príslušné komponenty, ako vhodné zberné plátky alebo adekvátny predseparátor [34].



Obrázok 11: Znáznornenie impakcie a dizajn Andersenovho kaskádového impaktora.



### ***Meranie aerosólových dávkočav***

Pred meraním sa zostaví impaktor, do posledného stupňa sa vloží vhodný filter a zaistí sa jeho vzduchotesnosť. Na vstupnú stranu vstupného komponentu sa umiestni adaptér náustku inhalátora, ktorý takisto zabezpečí vzduchotesnosť a udrží náustok v koaxiálnej polohe so vstupným dielom impaktora, pričom inhalátor je uchytený v polohe, ktorá odpovedá polohe pri reálnom použití. Výstupná časť impaktora sa pripojí na odsávací systém (vývevu s reguláciou prietoku) a prietok sa nastaví tak, aby do vstupného komponentu vstupovalo 28,3 l/min vzduchu s odchýlkou 5 %. [34]

Pred použitím sa, podobne ako pri reálnom použití, inhalátorom najprv zatrepe na 5 s, prípadne na dobu, ktorá je určená v pokynoch pre použitie na príbalovej informácii. Zapne sa výveva a inhalátor sa umiestni do adaptéru tak, ako je popísané vyššie a vypustí sa dávka aerosólu. Opakovaní by malo byť najviac 10, pričom medzi jednotlivými dávkami by malo uplynúť 5 s. Po poslednej dávke sa opäť počká 5 s, až potom sa inhalátor z adaptéru vyberie. Pri použití chemickej analýzy pomocou vysokovýkonnej kvapalinovej chromatografie sú následne jednotlivé komponenty povypľachované príslušným rozpúšťadlom, a tak je skúmaná látka vyextrahovaná. [34]

### ***Meranie inhalátorov pre práškovú formu lieku***

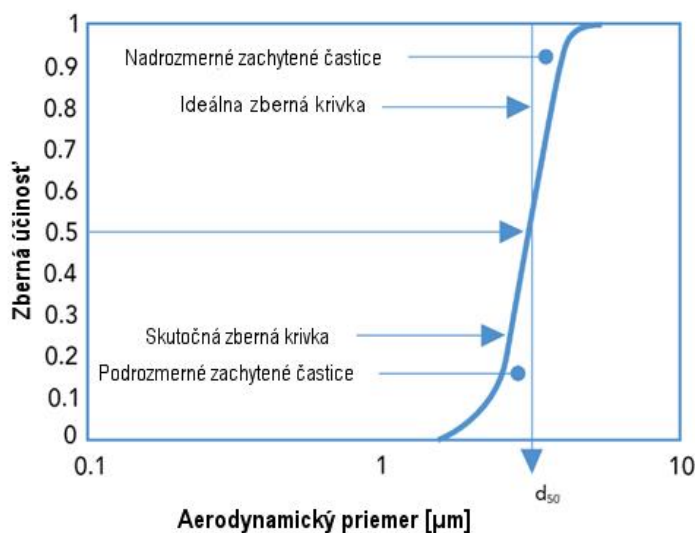
V prípade merania DPI z inhalátora vychádza väčšie množstvo veľmi veľkých častíc, ktoré sa nedostanú do dýchacích ciest. Z tohto dôvodu sa namiesto vstupného kužela medzi vstupný diel a prvý stupeň umiestňuje predseparátor. Pri použití Andersenovho kaskádového impaktora na meranie DPI je nutné nastaviť prietok na vstupe do vstupného komponentu na hodnotu 60 l/min alebo 90 l/min. Prednastavenie iných prietokov však zvýši rýchlosť vzduchu prechádzajúceho otvormi na jednotlivých stupňoch, a tým aj vlastnosti odseparovanej frakcie na stupni. Preto pre zmenené prietoky je nutné použiť konverzné zostavy, pozostávajúce z vhodného predseparátora, iných zberných plátok a niektorých náhradných stupňov impaktora. [35] Pred meraním sa teda poskladá aparátúra z príslušnej zostavy, do posledného stupňa sa umiestni vhodný filter a pred prvý stupeň sa vloží predseparátor. Postup pri meraní je nasledovný. Nastaví sa prietok tak, aby bola na vstupe požadovaná hodnota s odchýlkou 5 % a výveva sa vypne. Inhalátor pre práškovú formu lieku sa pripraví podľa pokynov na príbalovej informácii a nasadí sa náustkom do adaptéru na vstupnom diele [34]. Napokon sa vykoná „nádych“ trvajúci dostatočne dlhú dobu na to, aby boli „inhalované“ 4 l vzduchu [35]. Tento postup sa opakuje niekoľkokrát, nie je však bežné, aby bolo prekročených 10 opakovaní. Následne sa impaktor rozoberie, rovnako ako v prípade MDI, sa skúmaná látka vyextrahuje z jednotlivých komponentov a je určená na chemickú analýzu. [34]

Významný jav pri meraní MDI a hlavne DPI na kaskádovom impaktore je odrazenie častíc od plôch impaktora. K odrazeniu častice dochádza v prípade, že adhézne sily pôsobiace na časticu nedokážu prekonať hybnosť zo zrážky a tak ju udržať na ploche impaktora. [36] Z týchto dôvodov sa na plátky často nanáša surfaktant, ktorý zabráni ich odrazu, prípadne opätovnému vznosu. Avšak z tohto hľadiska sa javia membránové filtre zo sklenených vlákien nasýtené vlhkosťou ako rovnako vhodné riešenie [36].

a analýzu usadených častíc na jednotlivých poschodiach impaktora sa okrem vysokovýkonnej kvapalinovej chromatografie využíva viacero analytických metód. Usadené frakcie sa môžu napríklad vyhodnocovať pod mikroskopom, ak sa na jednotlivé stupne impaktora umiestnia sklenené plátky, membránové filtre, či rôzne

fólie. Taktiež môžu byť frakcie usadených častíc vyhodnocované gravimetricky na presných váhach z hmotnostného rozdielu pred meraním a po meraní alebo sa častice nechajú deponovať na kremenné kryštály a následne sa hmotnosť usadených častíc počíta zo zmeny vo vlastnej frekvencii kryštálov. [31]

Po analýze teda poznáme percentuálny podiel častíc danej rozmerovej triedy určenej stupňom impaktora. Na konkrétnom stupni sa ale neusadzujú častice iba jednej presnej veľkosti, ale istá škála rozmerovo blízka hodnote danej parametrami stupňa, čo je znázornené na *obrázku 12*. Zvislá čiara na obrázku predstavuje ideálnu situáciu, kedy je separácia častíc pri prechode stupňom dokonale presná a všetky častice väčšie ako tento rozmer zostanú usadené na plátku, všetky menšie sa dostanú do ďalšieho stupňa. Táto hodnota sa nazýva taktiež „cut-off diameter“ a je závislá okrem geometrie stupňa impaktora aj od prietoku. [35, 37] Veľkostná distribúcia častíc sa zvykne nahradzovať log-normálnym rozložením, a teda vlastnosti aerosólu ako MMAD (Mass Median of Aerodynamic Diameter), či FPF sú štatisticky určované z tejto distribúcie [18].



Obrázok 12: Kumulatívne vykreslenie aerodynamických priemerov častíc usadených na konkrétnom zbernom plátku. [35]

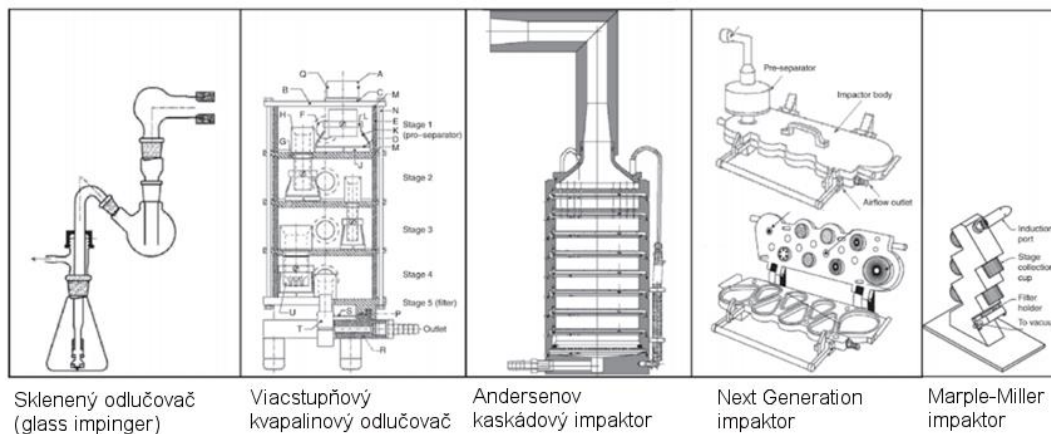
### 3.1.2 Dvojstupňový sklenený odlučovač (Twin Impinger)

Toto meracie zariadenie, opísané tiež v obecnej časti Európskeho liekopisu pozostáva z dvoch sklenených bánk obsahujúcich vhodné rozpúšťadlo prepojených taktiež sklenenými trubicami. Zariadenie je nastavené tak, že pri prietoku 60 l/min je hraničný aerodynamický rozmer častíc zachytených v prvej banke 6,4 μm. Častice menšie sú usadené v druhom stupni zariadenia. [38] Takto je aerosól rozdelený na vdýchnuteľnú a nevďýchnuteľnú frakciu. V prvom stupni, kde sú usadené veľké častice, je umiestnených 7 ml rozpúšťadla, pričom v druhom, ktorý slúži na zber malých častíc, ktoré sa za orofaryngeálnu oblasť dostanú, je umiestnených 30 ml rozpúšťadla.[38]

### 3.1.3 Viacstupňový kvapalinový odlučovač (MLI)

MLI bol pôvodne vyvinutý na meranie bakteriálnych vzoriek, no spolu s ACI a NGI patrí medzi najčastejšie používané impaktory pri testovaní inhalátorov a nebulizérov, a metodika jeho použitia je popísaná vo všeobecnej časti ako európskeho tak aj US liekopisu.[38, 39] MLI pozostáva zo vstupného dielu, ktorý je rovnaký ako u iných impaktorov, štyroch impakčných stupňov a filtru na výstupe. Tie obsahujú rozpúšťadlo, a tak je liečivo zberané priamo do kvapaliny. MLI umožňuje merania pri prietoku v rozmedzí od 30 do 100 l/min, pričom nominálny prietok pri bežnom zostavení zariadenia je 60 l/min.[38, 40] Priemerné aerodynamické rozmery častíc zozbieraných na jednotlivých stupňoch v smere zhora nadol sú 13 μm; 6,8 μm; 3,1 μm a 1,7 μm [38].





Obrázok 13: Schémy a náčrty popisovaných impaktorov. [59]

### 3.1.4 Marple-Miller impaktor

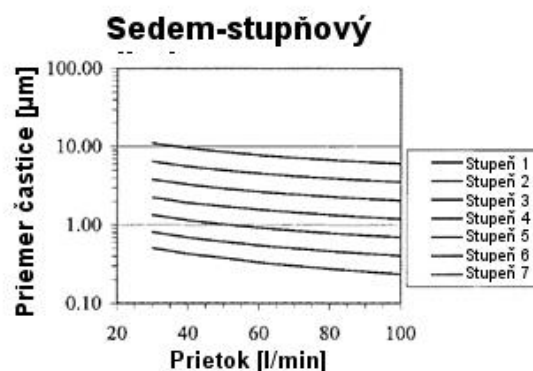
MMI má za vstupným dielom 5 impakčných stupňov a filter na zber častíc najmenších rozmerov a využíva sa pri prietokoch 30, 60 a 90 l/min. Zberné plátky sú nahradené pohárikovými nádobami, ktoré uľahčujú prípravu chemických vzoriek po meraní v zmysle zjednodušenia vyplachovania jednotlivých stupňov, čo taktiež bolo dôvodom na jeho vyvinutie. [40]

### 3.1.5 Next generation Impactor

NGI je zariadenie, pracujúce na podobnom princípe ako ACI, ktoré bolo vyvinuté v 90. rokoch minulého storočia špeciálne na testovanie terapeutických aerosólov z inhalačných systémov, na základe požiadaviek, ktoré vyplynuli z používania dovtedy dostupných testovacích zariadení (23 nutných funkcií, ktoré nové zariadenie mať musí a 12, ktoré by mať mohlo) [32]. Jeho dizajn je znázornený na obrázku 14. Oproti ACI na NGI je možné vykonávať merania pri variabilných prietokoch v rozmedzí 30 až 100 l/min, čo je veľmi užitočné pri meraní vplyvu rôzne silných nádychových cyklov na účinnosť zariadenia. Taktiež je možné prekalibrovať zariadenie na prietok 15 l/min, čo je vhodné najmä pre meranie nebulizérov, pretože tie sú využívané pri kľudovom dýchanom režime. [35] NGI je schopný rozseparovať častice vo veľkostnom rozmedzí 0,54  $\mu\text{m}$  až 11,6  $\mu\text{m}$  pri prietoku 30 l/min a v rozmedzí 0,24  $\mu\text{m}$  až 6,12  $\mu\text{m}$  pri prietoku 100 l/min [32].



Obrázok 14: Next Generation Impaktor. [35]



Obrázok 15: Závislosť rozmerov usadených častíc na jednotlivých stupňoch NGI pri rôznych prietokoch.

Výraznou výhodou je, že zberné stupne sú umiestnené v akýchsi vaničkách, a tak pri príprave vzoriek na analýzu nedochádza k žiadnej výraznej manipulácii so zbernými plochami, pretože sú vyplachované príslušným rozpúšťadlom priamo v týchto vaničkách. Tým sú eliminované výrazné komplikácie pri extrahovaní liečiva, ktoré môžu výrazne ovplyvniť výsledok merania. Zberné stupne sú umiestnené v jednej rovine. Týchto stupňov je 7 a rozmer usadených častíc je závislý od prietoku (viď obrázok 15 [32]).

### 3.2 Aerodynamic Particle Sizer

Aerodynamic Particle Sizer (APS) je zariadenie na meranie veľkostnej distribúcie častíc na základe tzv. Time-of-flight princípu. Ako napovedá názov zariadenia, podobne ako impaktory, aj toto zariadenie podáva informáciu o aerodynamickom priemere častíc. Aerosól je do meradla nasávaný s prietokom 5 l/min, následne je však rozdelený na dve cesty. Jedna cesta je filtračná, kde prejdú 4 l/min cez filter a ako čistý vzduch sa opäť pridávajú k zvyšnému prúdu tesne pred dýzou urýchľujúcou prúd. Takto zriadený, urýchlený aerosól (rýchlosť dosahuje až 150 m/s) prechádza cez dvojicu laserov. Častica pri prechode každým z laserov spôsobí jeho odraz a ten je zaznamenávaný. Časový rozdiel, za ktorý častica preletela medzi dvoma lasermi je zistený z časového rozdielu maximálnych odrazov. Z času, za ktorý častica preletela medzi dvoma lasermi pri presne definovanej rýchlosti danej dýzou, je určený jej aerodynamický priemer. [31]

### 3.3 Laserová Dopplerovská anemometria (LDA) a Fázová Dopplerovská anemometria (PDA)

Táto metóda, podobne ako APS, nie je určená primárne na meranie parametrov terapeutických aerosólov, no je využitá v tejto práci a preto bude nižšie popísaná v tejto kapitole. LDA je metóda určujúca rýchlosti častíc na základe zmeny frekvencie svetelného lúča, ktorý častica odrazí pri prechode. Zmena frekvencie je spôsobená Dopplerovým javom, preto názov Dopplerovská anemometria. Takto je možné stanoviť rýchlosti až niekoľko sto metrov za sekundu. [31]

Metóda PDA je nadstavbou metódy LDA, ktorá umožňuje určenie veľkostného spektra častíc. Funguje na podobnom princípe ako LDA, ale využíva niekoľko detektorov (zvyčajne 3), ktoré súčasne snímajú svetlo odrazené od častice, pričom ich priestorové posunutie spôsobí detekovanie mierne iných vlastností zaznamenaného svetla. Na základe fázového posunu signálu medzi týmito snímačmi je určená veľkosť častice, ktorá laserom prešla.[31]

## 4 Metodika

Cieľom experimentálnej časti práce bolo určenie parametrov aerosólu z rôznych inhalačných systémov, pričom boli primárne zisťované veľkostné spektrá a rýchlosti častíc. Dôležitou súčasťou sú merania na Andersenovom kaskádovom impaktore (ACI), ktoré priniesli množstvo úskalí, od kompletizácie a utesňovania zariadenia, k správne určovaniu usadených frakcií a následnej analýze veľkostného spektra. Na určovanie množstva deponovaných častíc na jednotlivých stupňoch impaktora boli použité tri metódy. Najdostupnejšia a najjednoduchšia bola gravimetrická, kde boli množstvá usadených častíc na plátku určené z hmotnostného rozdielu plátku odváženého po dávkovaní a pred dávkovaním. Ďalšia analytická metóda použitá pri meraniach na ACI bola fluorimetria, ktorá je však obmedzená možnosťami značkovania liečiva a v rámci tejto diplomovej práce bolo možné označiť fluoresceínom iba náplň zariadenia Respimat SMI (Boehringer Ingelheim). Poslednou analytickou metódou na definovanie deponovaných frakcií aerosólu na stupňoch impaktora bola vysokovýkonná kvapalinová chromatografia (HPLC), ktorá bola vykonaná na Ústave technológie liek, VFU v Brne. Keďže v prípade chromatografie išlo o komerčnú spoluprácu s VFU, z hľadiska nákladov bol pre účely diplomovej práce zanalyzovaný iba jeden pokus merania, a to len zariadenia Fostair NEXThaler. Veľkostné spektrá boli taktiež určené pomocou APS (TSI) a v prípade zariadenia Atrovent (MDI) a Respimat SMI taktiež pomocou PDA metódy.

### 4.1 Meranie DPI zariadení

Ako už bolo viackrát spomenuté, spomedzi inhalátorov pre práškovú formu lieku boli v tejto práci premerané inhalátory Fostair NEXThaler a Brimica Genuair. Zariadenie Fostair NEXThaler bolo premerané pomocou ACI s použitím gravimetrickej, ale aj chromatografickej analýzy, a taktiež s využitím APS. Zariadenie Brimica Genuair bolo premerané na ACI iba pomocou gravimetrickej analýzy a pre porovnanie boli použité údaje z meraní na APS merané v rámci v autorovej bakalárskej práce, avšak prevedené na hmotnostné rozloženia.

Fostair NEXThaler (Chiesi) je inhalátor pre práškovú formu lieku vybavený BAM mechanizmom, ktorý je popísaný v teoretickej časti. Ten umožňuje dodávku liečiva až po prekročení prietoku 35 l/min. Pri meraniach na ACI bola použitá zostava s predseparátorom určená pre meranie s prietokom 60 l/min (*obrázok 16*). V tejto zostave by mali byť použité stupne -1, -0, 1, 2, 3, 4, 5 a 6, a na posledný stupeň označený ako „F“ by mal byť umiestnený membránový filter zachytávajúci častice menšie ako zberný rozmer posledného stupňa, v tomto prípade menšie ako 0,26  $\mu\text{m}$ . Membránové filtre zo sklenených vlákien určené na tento účel predstavovali veľkú finančnú čiastku a tam, kde to bolo možné, boli nahradené nitrocelulózovými filtrami, tie sú však hydrofilné, a teda nevhodné na gravimetrickú analýzu. V zostave pre merania s prietokom 60 l/min sú na prvé tri stupne umiestnené zberné plátky s otvorom uprostred, pričom v zostave s prietokom 28,3 l/min sú takéto plátky iba dva. [35]

Bohužiaľ, impaktor nebol tesný a pri nastavení na prietok okolo 60 l/min prisával<sup>8</sup> približne 3 l/min falošného vzduchu. Kvôli potrebám analýzy ale musel impaktor zostať ľahko rozoberateľný, a to tak, aby pri rozoberaní nebolo nutné s ním výrazne hýbať, a nedošlo tak k ovplyvneniu deponovaných frakcií na stupňoch a plátkoch. Preto boli stupne oblepené striebornou lepiacou páskou a všetky zvyšné spoje obalené do plastického tmelu. Pre upevnenie inhalátora na vstupný komponent impaktora bol vytvorený adaptér zo silikónového plátu, ktorý mal tvar dutého valca a jeho vstupná strana bola vyplnená tmelom, aby sa dala prispôbiť tvarom rôznych náustkov. Avšak v prípade zostavy pre prietok 60 l/min sa prisávanie falošného vzduchu znížilo iba približne o 1 až 2 l/min. Pri zostave pre prietok 28,3 l/min sa ale takýmto spôsobom impaktor podarilo utesniť.

Nasávanie pri „inhalácii“ liečiva do impaktora by malo byť také dlhé, aby pri príslušnom prietoku zabezpečilo „vdýchnutie“ 4 litrov vzduchu, to znamená pri prietoku 60 l/min nasávanie po dobu 4 s. Pri dávkovaní však výveva nebola riadená elektronicky, ale manuálne, a navyše nábeh vývevy na požadovaný prietok istú dobu trvá, preto 4 sekundový „nádech“ určite nezabezpečil presne 4 l nasatého vzduchu. V prípade zariadenia Brimica Genuair boli gravimetricky vyhodnotené tri merania pri použití dodatočne neutesneného impaktora (ACI bol utesnený iba jeho vlastnými tesniacimi krúžkami) so zle nastaveným prietokom, pričom na vstupe do ACI bolo nasávaných cca 55 l/min. K nim boli na porovnanie realizované tri merania na čo najlepšie utesnenom impaktore pri prietoku na vstupe požadovaných 60 l/min.

Počas vzorkovania bolo do impaktora nasatých 15 dávok liečiva zo zariadenia Fostair NEXThaler, pri meraní zariadenia Brimica Genuair v prípade utesneného impaktora bolo dávkovaných taktiež 15 dávok na meranie a pri neutesnenom ACI so zlým prietokom iba 10 dávok na meranie. Z ružového krytu inhalátora Fostair NEXThaler, ktorý sprostredkováva sprístupnenie dávky liečiva na inhaláciu, bola odrezaná približne polovica, aby sa pri príprave ďalšej dávky nemusel z adaptéra odoberať a krytom bolo možné pootočiť, aj keď bol inhalátor umiestnený v adaptéri. Pri umiestnení zariadenia do adaptéru bolo nutné dbať na to, aby prieduch určený na vstup vzduchu do inhalátora nebol zakrytý, pretože by to ovplyvnilo výsledný prietok



Obrázok 16: Neutesnený impaktor s adaptérom v zostave pre meranie DPI s prietokom 60 l/min.

---

<sup>8</sup> Prisávanie falošného vzduchu bolo určené z rozdielu hodnôt vyčítaných z dvoch prietokomerov, jedného umiestneného na vstupe do impaktora a druhého na výstupe z impaktora.



zariadením, a teda disperziu častíc. Medzi dávkami bola výveva vypnutá aspoň 20 sekúnd.

#### 4.1.1 Gravimetrická analýza deponovaných frakcií na plátkoch impaktora

Po úspešnom dokončení dávkovania nasledovala analýza množstva častíc usadených na jednotlivých stupňoch impaktora. Postup gravimetrického vyhodnocovania deponovaných frakcií popísaný v nasledujúcich riadkoch je totožný s postupom gravimetrickej analýzy meraní všetkých zariadení skúmaných v tejto práci. Na váženie boli použité elektronické váhy KERN ABJ 220-4M.

Pri gravimetrickej analýze boli vážené iba zberné plátky ACI. Častice usadené na samotných stupňoch impaktora vážené neboli, kvôli neľahkej manipulácii so stupňom pri snahe o nepoškodenie vzorky, a taktiež kvôli rozmerom stupňov. Kvôli štatistike bol každý plátok bol odvážený minimálne 10 krát a tieto hodnoty boli následne spriemerované. Bola stanovená neistota typu A a B, a následne rozšírená neistota U. Po odčítaní rovnako určených hmotností čistého plátku boli stanovené hmotnosti usadených častíc. Pre lepšie možnosti analýzy boli hmotnosti prevedené na takzvanú normalizovanú hmotnosť, ktorá predstavuje hmotnostnú frakciu naváženú na plátku zo sumy všetkých navážených hmotností usadených častíc. Na obrázku 17 je znázornený plátok impaktora s deponovanými časticami umiestnený v elektronických váhach.



Obrázok 17: Váženie plátku po experimente.

#### 4.1.2 Analýza pomocou vysokovýkonnej kvapalinovej chromatografie

Ďalšou metódou na analýzu merania na ACI bola metóda HPLC. Na takúto analýzu bolo nutné získať analyt, teda štandard spektrometricky skúmanej látky potrebný na kalibráciu. Na základe dostupnosti analytu bolo uvážené, že chromatografická analýza bude vykonaná iba pre zariadenie Fostair NEXThaler. V rámci diplomovej práce, kvôli finančnej náročnosti, nebolo možné túto analýzu zopakovať viackrát, a bola teda vykonaná len na jednom pokuse merania. Prášková zmes Fostairu obsahuje kombináciu dvoch aktívnych ingrediencií, a to beklometazón dipropionátu (IC) a dihydrátu formoterol fumarátu (LABA), a ako nosič je v ňom použitá laktóza. Z dôvodov dostupnosti bola zvolená analýza usadzovania častíc beklometazón dipropionátu, aj keď pre úplnosť merania je žiadané vykonať analýzu

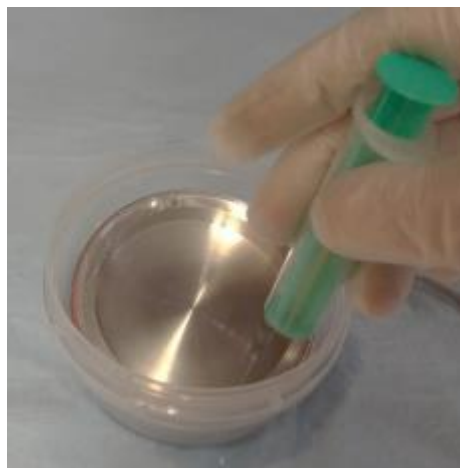


Obrázok 18: Utesnený ACI v zostave na meranie DPI, v pozadí sú mištičky na vyplachovanie metanolom.

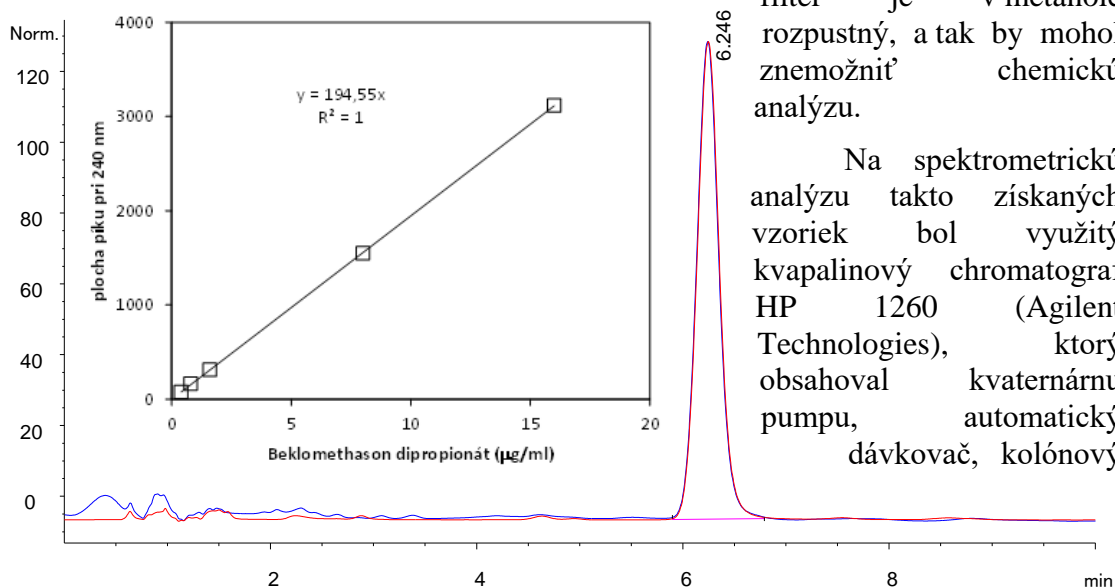
pre častice všetkých troch spomenutých ingrediencií. Na *obrázku 18* je znázornený utesnený impaktor s miskami, v ktorých boli pri tomto meraní stupne vyplachované.

Postup dávkovania pri meraní určenom na spektrometrickú analýzu bol v podstate totožný s postupom pri gravimetrii, avšak pre zaistenie dostatočnej koncentrácie beklometazónu v roztoku po vypláchnutí stupňov bolo množstvo dávok „inhalovaných“ do ACI zdvojnásobené oproti gravimetrii, teda bolo na toto meranie použitých 30 dávok.

Ako rozpúšťadlo bol použitý metanol, preto vyplachovanie stupňov a plátok vyžadovalo vysokú dávku opatrnosti a ohľadu na bezpečnosť. Na vypláchnutie väčšiny segmentov bolo použitých 20 ml metanolu, na vstupný segment pripodobňujúci horné dýchacie cesty spolu s predseparátorom 30 ml a na prvý stupeň impaktora spolu so za ním nasledujúcim plátkom (stupeň označený -1) 40 ml. Pri vyplachovaní stupňov sa najprv do plastovej potravinárskej misky s vhodným rozmerom vložil stupeň bez plátku. Ten bol obliaty spomenutým množstvom rozpúšťadla. Následne sa roztok z mištičky opakovane naberal do injekčnej striekačky a ňou sa z každej strany niekoľkokrát opláchol (*obrázok 19*). Striekačka sa medzi vyplachovaním jednotlivých segmentov prepláchl vodou. Po takomto vypláchnutí stupňa sa stupeň z rozpúšťadla vybral a do toho istého roztoku sa vložil príslušný zberný plátok. Miska sa zatesnila a vložila do ultrazvukovej trepačky na 5 minút. Po zastavení trepačky bol roztok preliaty do fľaštičky, zatesnený a poslaný na analýzu. V prípade vyplachovania vstupného segmentu bol vnútorný povrch vypláchnutý iba pomocou injekčnej striekačky. Do predseparátora sa naliala časť roztoku, ktorým bol vyplachovaný vstupný segment a takto bol vložený do ultrazvukovej trepačky. Roztok vstupného hrdla a predseparátora bol spojený a vyhodnocovaný ako jedna vzorka. Žiaľbohu, frakcia častíc menších ako  $0,26\ \mu\text{m}$  zmeraná nebola. Na to by bolo nutné použiť membránový filter zo sklenených vlákien, pretože dostupný nitrocelulózový



Obrázok 19: Vyplachovanie stupňa impaktora pomocou injekčnej striekačky.



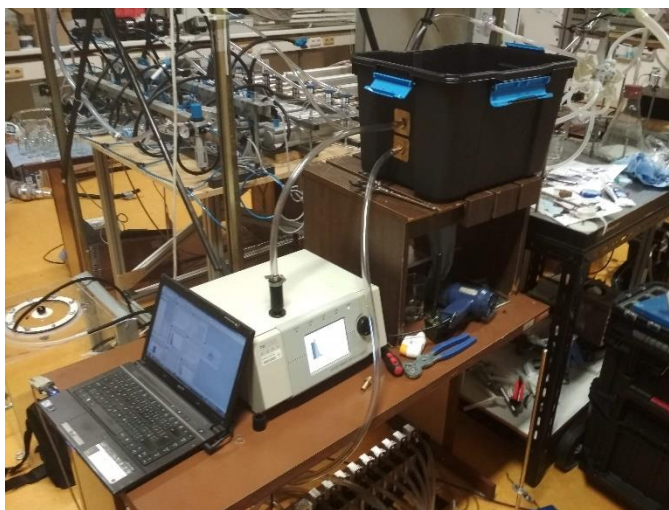
Obrázok 20: Chromatogram BDP (červená krivka predstavuje analyt, modrá vzorku) a kalibračná krivka [41]

termostat a spektrofotometrický detektor. Beklometazón dipropionát bol odseparovaný izokratickou elúciou na chromatografickej kolóne LiChrospher RP 18 100 (5  $\mu\text{m}$ ) [41]. Zloženie mobilnej fázy bolo: acetonitril a 20 mM  $\text{H}_3\text{PO}_4$  v pomere 60:40 (v/v). Prietok mobilnej fázy bol 1,0 ml/min a teplota kolóny 30 °C. Dávkovanie bolo po 20  $\mu\text{l}$  vzorky. Koncentrácia beklometazón dipropionátu bola stanovená na základe kalibračnej krivky (obrázok 20). [41]

Keďže medzi plochou vymedzenou chromatografickým píkom a koncentráciou beklometazón dipropionátu (BDP) existuje lineárna závislosť, kalibračná krivka umožňujúca výpočet koncentrácie BDP v roztoku bola stanovená z chromatogramu analytu BDP pri rôznych koncentráciách (0,4; 0,8; 1,6; 8, 16  $\mu\text{g/ml}$ ) a plochy vymedzenej píkom v chromatograme pri odpovedajúcom roztoku. Následne, pri vyhodnocovaní vzoriek z merania na ACI boli koncentrácie BDP stanovené z takto definovanej kalibračnej krivky na základe plochy pod píkom v chromatograme, určenej pre každú vzorku. Keďže boli stupne vyplachované presne definovaným objemom metanolu, z takto určených koncentrácií bola stanovená hmotnosť beklometazónu deponovaného na jednotlivých stupňoch impaktora.

#### 4.1.3 Stanovenie veľkostného spektra častíc DPI pomocou Aerodynamic Particle Sizeru

Meranie každého z vybraných DPI na APS sa mierne líšilo, keďže v prípade zariadenia Brimica Genuair boli údaje čerpané z autorovej bakalárskej práce, no princíp týchto dvoch meraní bol totožný. [8] Cieľom bolo dávkovanie prášku do vzduchu tak, aby bolo možné nasávanie aerosólu do APS. V oboch prípadoch bola použitá nádoba, v ktorej sa vývevou vytváral podtlak a ten zabezpečil „nádych“, a teda disperziu liečivého prášku do vzduchu v nádobe. V malej vzdialenosti od náustku DPI bola umiestnená



Obrázok 21: Trať pri meraní DPI pomocou APS. (Box je pri meraní uzatvorený).

izokinetická sonda, hadicou napojená na vstup do APS. Trať je znázornená na fotke na obrázku 21. Pri takomto dávkovaní bola snaha o napodobnenie kontinuálneho dávkovania, preto boli „nádychy“ robené v čo najkratšej nadväznosti za sebou, inak by sa veľkostné spektrum posúvalo k nižším rozmerom nasávaním „čistého vzduchu“ [8]. Avšak takéto časté dávkovanie spôsobuje pri meraní bez dilutora prekročenie limitu koncentrácie. Kritická hodnota koncentrácie bola teda prestavená a navýšená, čo znižuje presnosť meracieho zariadenia. V spomínanej bakalárskej práci bol ako nádoba na dávkovanie použitý plastový kanister s vyrezaným otvormi na vývevu a APS, ktorý ale pomerne netesný [8]. V tejto práci, teda pri meraní zariadenia Fostair NEXThaler, bol využitý vodotesný box, ktorého väčšina spojov boli utesnené lepšie ako v prípade plastového kanistra, bohužiaľ otvor pre náustok DPI v snahe o univerzálnosť pre viaceré inhalačné systémy sa dostatočne utesniť nepodarilo.



## 4.2 Meranie inhalátora Atrovent (MDI)

Ďalším skúmaným inhalátorom je aerosólový dávkovač Atrovent (Boehringer Ingelheim). Parametre aerosólu z tohto zariadenia boli premeriavané tromi metódami. Ponajprv sa, v snahe o určenie veľkostného spektra častíc, uskutočnilo meranie na ACI určené na gravimetrickú analýzu s 20 emitovanými dávkami, pričom jedno meranie bolo vykonané s použitím spaceru a jedno bez neho. Kvôli nejasným výsledkom sa meranie bez spaceru následne zopakovalo s výrazne navýšeným počtom dávok na 130.

Veľkostná distribúcia častíc aerosólu z tohto zariadenia bola overená taktiež pomocou PDA metódy. Po nastavení optiky sa inhalátor umiestnil v polohe bežného použitia a s náustkom vo vzdialenosti približne 8 cm od priesečníku lúčov. Jedno takéto meranie trvalo 20 s a za ten čas bolo z inhalátora emitovaných približne 10 až 13 dávok. Simultánne popri meraní veľkostnej distribúcie častíc aerosólu bola pomocou LDA systému určená ich axiálna a radiálna rýchlosť. Týmto spôsobom bola zistená rýchlosť častíc na piatich bodoch v horizontálnej rovine prúdu, a tak bol stanovený tvar rýchlostného profilu. Výkon laseru bol 0,3 W s vlnovou dĺžkou 488 nm a 514,5 nm. Optická vzdialenosť laser emitujúcej aj prijímacej optiky bola 310 mm, rozptylový uhol  $50^\circ$ , priestorový filter prijímajúcej optiky bol 0,1 mm a maximálny priemer častice  $34\text{ }\mu\text{m}$ . Na prijímaciu optiku bola uložená maska A. Atrovent pri meraní na PDA a LDA je znázornený na obrázku 22.



Obrázok 22: Meranie Atroventu na PDA.

Napokon bolo veľkostné spektrum častíc stanovené zariadením APS. Pri takýchto meraniach v rámci bakalárskej práce bol zistený vplyv frekvencie dávkovania, v zmysle, že sa v prestávkach medzi dávkami distribúcia veľkostí častíc posúvala k nižším hodnotám, až sa pripodobnila spektru „čistého“ vzduchu. V snahe o zamedzenie tohto javu bol aerosól dávkovaný „kontinuálne“, respektíve s čo najkratšími prestávkami medzi dávkami. V autorovej bakalárskej práci bola však určená iba početnostná distribúcia. Počas meraní tejto diplomovej práce bolo zistené, že vplyv frekvencie dávkovania aerosólu sa líši v prípade početnostnej distribúcie a hmotnostnej distribúcie, respektíve kontinuálne dávkovanie, pri ktorom ostalo početnostné veľkostné spektrum približne na očakávaných hodnotách, spôsobilo v hmotnostnom veľkostnom rozložení výrazný posun k hodnotám vyšším. To ukázalo, že v prípade merania hmotnostného rozloženia je dávkovanie s nižšou frekvenciou vhodnejšie.



Taktiež bola v bakalárskej práci [8] vyslovená hypotéza, že výrazné odchýlky meraní zariadenia Atrovent na APS môžu byť spôsobené vysokou rýchlosťou emitovaného aerosólu, v zmysle vyššej náchylnosti na pohyb a orientáciu zariadenia, čo pri ručnej manipulácii môže mať zásadný vplyv. Na základe tohto podozrenia bolo zariadenie otestované pri dvoch rozdielnych zostaveniach trate. Pri prvom bol inhalátor umiestnený vo vzdialenosti 10 cm od izokinetickej sondy, v druhom bola sonda umiestnená tesne pred náustok.

### 4.3 Metodika merania zariadenia Respimat SMI

SoftMist inhalátor Respimat je zaujímavé zariadenie, ktorého technológia, okrem toho, že zabezpečuje pomalšie emitovanie aerosólu, umožnila nahradenie pôvodnej kvapalnej náplne ľubovoľným roztokom. Pôvodná náplň bola z kanistra jednoducho vytiahnutá injekčnou striekačkou a nahradená označeným roztokom. V tomto prípade išlo o roztok fluoresceínu vo vode s koncentráciou 3 mg/ml. Veľkostné spektrum aerosólu vzniknutého použitím zariadenia Respimat s roztokom fluoresceínu bolo overené na zariadení APS a systémom PDA, pričom bola popri tom stanovená priemerná rýchlosť výstupného aerosólu vo vzdialenosti približne 8 cm od náustku, kvôli overeniu, či sa parametre aerosólu nezmenia zmenou náplne.

Komplikácie nastali po použití, keď cesty inhalátora vyschli. Farbivo v roztoku po vyschnutí totiž v niektorých prípadoch spôsobilo upchanie trysky. Vo väčšine prípadov sa podarilo trysku vyčistiť, no pri jednom pokuse, kedy bol roztok fluoresceínu nedostatočne rozpustený a obsahoval drobné pevné častice, bolo zariadenie znefunkčnené úplne. Roztok fluoresceínu bol v meraniach Respiamatu použitý na meranie veľkostného spektra častíc na ACI, ale aj na určenie frakcie častíc, ktoré sa dostanú za horné dýchacie cesty použitím mechanického modelu ľudskej ústnej dutiny. V tejto práci boli merania doplnené využitím systémov LDA a PDA.

#### 4.3.1 Meranie inhalátora Respimat SMI na ACI s využitím fluoresceínom označeného roztoku

Ako už bolo popísané vyššie, do nádržky inhalátora bol vstreknutý roztok fluoresceínu rozpusteného v destilovanej vode s vysokou koncentráciou 3 mg/ml. Pri dávkovaní do impaktora nebolo nutné utesňovať náustok, pretože v takom prípade by do impaktora nemohol prúdiť žiadny vzduch, keďže inhalátor je nepriepustný. Respimat SMI bol do vstupného komponentu umiestnený v rovnakom adaptéri, ako boli umiestnené zariadenia DPI, avšak pri tomto meraní bol zabezpečený prísun vzduchu cez otvory v náustku. Pri prvom takomto meraní bolo do ACI emitovaných 50 dávok. Inak sa postupovalo podľa metodiky popísanej v liekopise pre meranie pre meranie MDI. Pri tomto meraní bolo zistené, že skúšané množstvo dávok je zbytočne vysoké, a tak boli ďalšie merania vykonané pri spotrebovaní 15 dávok na meranie. Po nasatí všetkých dávok merania sa jednotlivé komponenty vyplachovali v destilovanej vode, z výsledného roztoku bola na fluorimetri určená koncentrácia fluoresceínu a z objemu roztoku, v ktorom bol komponent vypláchnutý bolo stanovené množstvo fluoresceínu deponovaného na jednotlivých komponentoch impaktora. Impaktor bol v zostave pre prietoky 28,3 l/min a pri meraniach sa ho podarilo utesniť tak, že prietok vzduchu na vstupe bol rovnaký ako na výstupe. Membránový filter, ktorý mal byť umiestnený na posledný stupeň, bol kvôli nevhodným rozmerom dostupného nitrocelulóзовého filtra umiestnený v trati za výstupom z impaktora. Na vyplachovanie stupňov boli využité rovnaké mištičky ako v prípade zariadenia Fostair NEXThaler. Postup vyplachovania stupňov bol

nasledovný. Najprv sa do mištičky vložil stupeň impaktora, na ktorý bolo vzápätí vyliaty 20 ml destilovanej vody. Keďže 20 ml vody neprikryje stupeň impaktora, boli stupne omývané plastovými Pasteur pipetami na jedno použitie. Po čo najdôkladnejšom opláchnutí stupňa impaktora bol stupeň z mištičky vytiahnutý a do toho istého roztoku bol vložený zberný plátok prislúchajúci danému stupňu. Mištička, v ktorej bol plátok ponorený do roztoku vyextrahovanými časticami zo stupňa, bola vložená na 5 minút do ultrazvukovej trepačky na dôslednejšie extrahovanie fluoresceínu do roztoku. Vstupný komponent bol vyplachovaný tak, že doňho bolo naliatych spomínaných 20 ml vody a otvory z oboch strán boli zatesnené plastelínou. Nebol však umiestnený do trepačky, kvôli obavám z vyliatia roztoku, no bolo ním pretrepané ručne. Nitrocelulózový filter, ktorý mal zachytiť častice menšie ako  $0,4\ \mu\text{m}$ , bol pinzetou vložený do fľaštičky s tesným uzáverom, zaliaty 20 ml vody a vložený na 3 minúty do ultrazvukovej trepačky. V trepačke sa nitrocelulózový filter väčšinou sčasti rozpadol, čo však, zdá sa, neovplyvnilo meranie fluorimetrom. Pri samotnom meraní bol ten istý roztok meraný viackrát, a to tak, že po odmeraní bol objem 1 ml vialky vyhodnocovanej fluorimetrom vrátený do misky s roztokom a po premiešaní opätovne nabratý a vyhodnotený kvôli eliminovaniu vplyvu nerovnomerného premiešania roztoku. Tento postup sa pri každej mištičke opakoval aspoň 3 krát.

#### 4.3.2 Meranie FPF inhalátora Respimat SMI na realistickom modeli ústnej dutiny

Cieľom ďalšieho merania bolo určiť priamo frakciu častíc, ktoré sa pri odporúčanom inhalačnom prietoku dostanú za horné dýchacie cesty, teda sa považujú za terapeuticky účinné. Na to bol využitý segmentovaný realistický model ľudských dýchacích ciest s ústnou dutinou vyvinutý na Odbore termomechaniky a techniky prostredí, FSI, VUT v Brne<sup>9</sup> (obrázok 23). Aby sa dýza inhalátora dala vsunúť do vstupnej valcovej časti modelu, do ktorej vyúsťuje ústna dutina, bol plastový náustok inhalátora odrezaný. Po



Obrázok 23: Meranie zariadenia Respimat SMI na modeli horných dýchacích ciest.

tejto úprave bola dýza pri vložení do náustku vstupného valca modelu vzdialená od začiatku geometrie ústnej dutiny približne 2 cm. Meracia trať bola tvorená z prvých dvoch segmentov spomínaného modelu (orofaryngeálna oblasť a trachea), ktoré boli zaskrutkované dokopy a utesnené tmelom, z nitrocelulózového membránového filtra umiestneného za tracheu, prietokomeru, a vývevy. Pri reálnom používaní inhalátora Respimat SMI sú pacienti inštruovaní k pomalému hlbokému nádychu s cieľovým prietokom 30 l/min, z toho dôvodu bol takýto prietok nastavený aj pri experimente.

<sup>9</sup> Segmentovaný realistický model dýchacích ciest s ústnou dutinou je popísaný v zdroji [42]

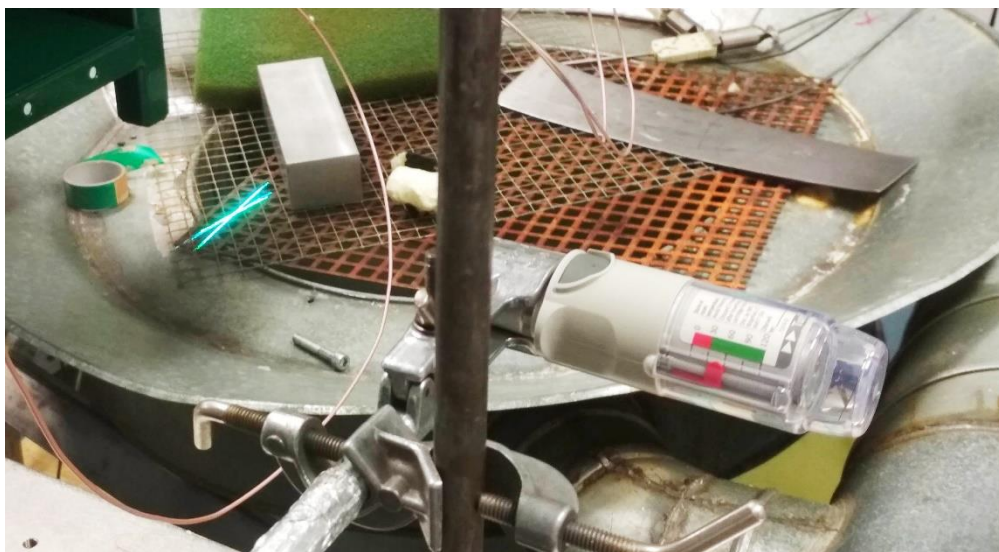
Odmeraním prietoku na vstupe do modelu a za filtrom bola overená tesnosť trate. Spočiatku boli uskutočnené tri merania s použitím 20 dávok na meranie a následne tri merania s použitím 10 dávok na meranie. Po „inhalovaní“ všetkých dávok do modelu bola trať rozobraná a nasledovalo vyplachovanie jednotlivých segmentov. Spočiatku sa každý segment vypláchol 20 ml destilovanej vody, avšak v prípade, že fluorimeter hlásil príliš vysokú koncentráciu fluoresceínu, bol roztok v mištičke rozriedený, a množstvo fluoresceínu deponovaného na segmente bolo teda vyhodnotené z väčšieho objemu roztoku. Pri vyplachovaní sa zazátkoval najprv jeden otvor, potom sa dovnútra vlialo 20 ml destilovanej vody a zazátkoval sa druhý otvor. V prípade otvorov nekonvenčných tvarov alebo zátkam nevyhovujúcich rozmerov, boli otvory uzavreté tmelom. Po takomto utesnení sa segmentami pretrepalo, aby boli častice roztoku fluoresceínu extrahované do vody. Napokon sa roztok vylial do misky a meral na fluorimetri rovnako ako v prípade merania na impaktore. Častice usadené na filtri boli extrahované na ultrazvukovej trepačke rovnakým postupom ako pri meraniach na ACI.

### 4.3.3 Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou APS

Meranie inhalátora Respimat SMI na zariadení APS bolo vykonané z dôvodu overenia veľkostnej distribúcie častíc pri naplnení nádržky roztokom fluoresceínu. Podobne ako pri meraní zariadenia Atrovent na APS, aj tomto prípade bol zistený rovnaký vplyv dávkovania na hmotnostné rozloženie. To znamená, že pri čo najčastejšom dávkovaní (dávka za dávkou) sa medián distribúcie posúval k vyšším hodnotám. Na základe tejto skutočnosti bol inhalátor Respimat premeraný taktiež pri nižšej frekvencii dávkovania.

### 4.3.4 Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou PDA a LDA

Postup merania Respimatu metódami LDA a PDA bol totožný s postupom merania zariadenia Atrovent, pričom bolo takýmto spôsobom premerané taktiež zariadenie s roztokom fluoresceínu v nádržke (obrázok 24).



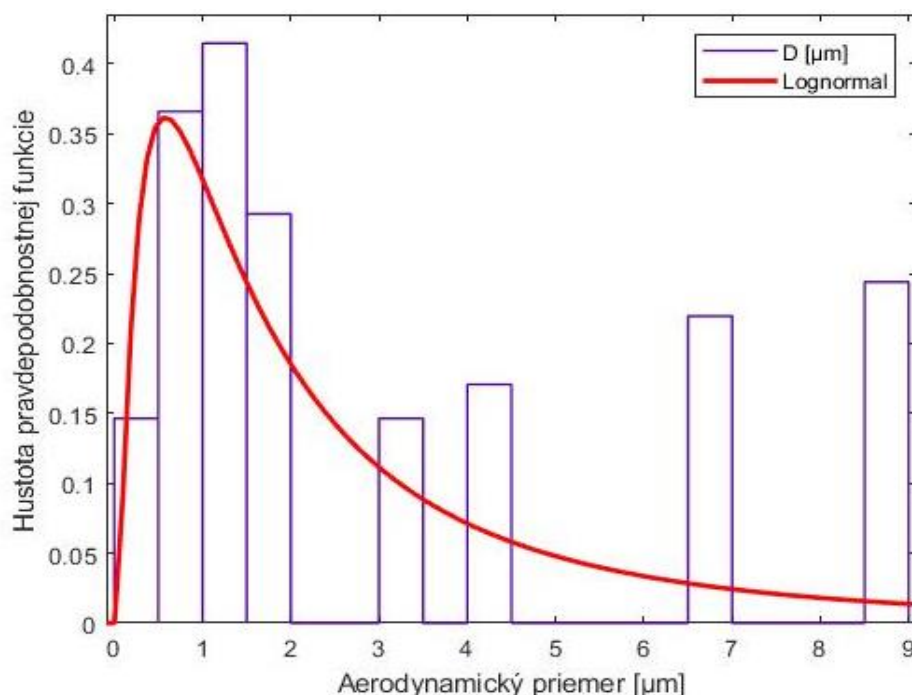
Obrázok 24: Meranie Respimatu SMI pomocou systému PDA.

## 5 Výsledky

### 5.1 Fostair NEXThaler

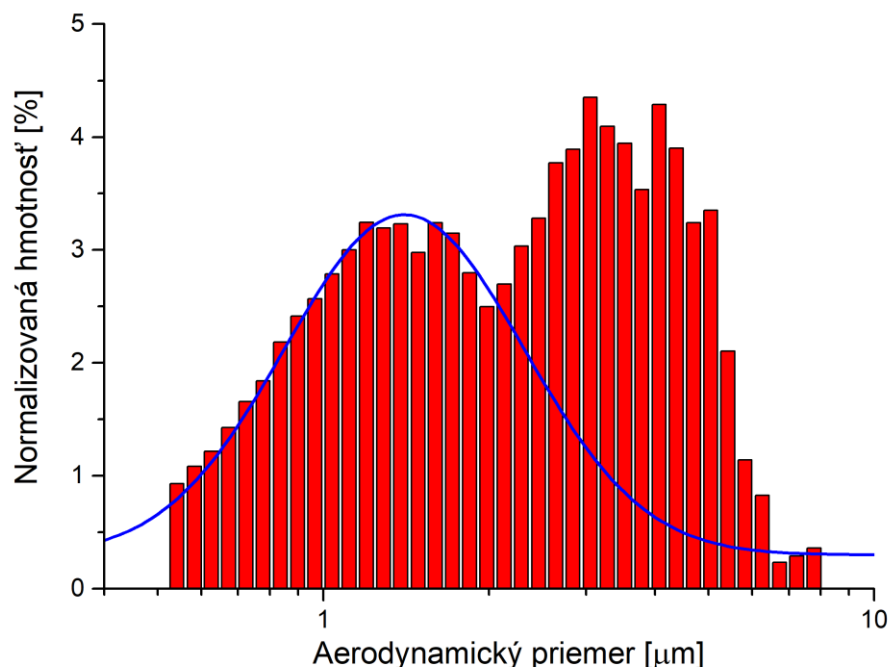
V prípade oboch DPI meraných na impaktore došlo k nameraniu nie veľmi očakávaných hodnôt. Pri oboch práškových inhalátoroch totiž distribúcia veľkostí častíc mala bimodálny tvar (viď *obrázok 25*), čo by v prípade jedného zdroja častíc nemalo nastať. Prášok DPI zariadení býva zložený z viacerých komponentov, takže bimodálna distribúcia častíc je očakávateľná, no v prípade meraní na impaktore rástol horný modus k prehnane veľkým časticiam a bol identifikovaný taktiež chemickou analýzou, ktorá skúmala rozloženie iba jednej zložky liečiva. Keďže tento jav nastal iba v prípade inhalátorov pre práškovú formu lieku, núka sa vysvetlenie, že nárast deponovaných častíc na prvých stupňoch impaktora (teda stupňoch, kde deponujú častice najväčších rozmerov) je spôsobený tým, že nevdychnuteľné častice a hlavne aglomeráty častíc, ktoré by mali byť zachytené v predseparátore alebo vstupnom hrdle sa dostali až na prvé stupne impaktora. To mohlo byť spôsobené meraním bez použitia surfaktantu. Veľké častice na prvých plátkoch impaktora boli viditeľné tiež voľným okom, čo by, v prípade častíc menších ako približne  $9\text{ }\mu\text{m}$ , nemalo byť možné.

U takýchto bimodálnych distribúcií je stanovenie parametrov problematickejšie. V prípade farmaceutických aerosólov by veľkostné rozloženie malo predstavovať lognormálnu distribúciu [18], avšak pri preložení celého takto nameraného spektra distribučnou krivkou je zhoda chabá (znázornené na *Obrázku 25*).



Obrázok 25: Preloženie celej nameranej distribúcie BDP na ACI pri meraní Fostair NEXThaleru lognormálnou distribúciou.

Bimodálne distribúcie boli namerané aj pri iných meraniach inými metódami. Pri spracovaní takýchto výsledkov bola bimodálna distribúcia považovaná za súčet dvoch unimodálnych lognormálnych distribúcií. Pri analýze výsledkov bolo vhodné vyhodnocovať parametre jednotlivých módov samostatne, a to buď z dôvodu eliminácie vplyvov nedokonalosti metodiky (v prípade impaktora spôsobených meraním bez surfaktantu) alebo v snahe o stanovenie parametrov oboch módov pri viaczožkových aerosóloch. Pri osamostatnení jedného módu boli teda hodnoty tvoriace druhý mód nahradené tak, aby mal osamostatnený mód lognormálne rozloženie. Príklad takejto úpravy je na *obrázku 26*, kde je znázornená bimodálna distribúcia Fostair NEXThaleru stanovená na APS a modrá krivka vymedzuje jeden mód.



Obrázok 26: Úprava bimodálnej distribúcie osamostatnením požadovaného módu. (veľkostná distribúcia častíc Fostair NEXThaleru zmeraná na APS)

### 5.1.1 Gravimetrická analýza parametrov aerosólu inhalátora Fostair NEXThaler pomocou ACI

Gravimetricky boli vyhodnotené tri merania, pričom výsledky jedného sa značne líšili od zvyšných (a taktiež od merania vyhodnoteného chemickou analýzou), a tak bolo zo súboru vylúčené. Z kumulatívnych distribúcií bol lineárnou interpoláciou vyjadrený hmotnostný medián aerodynamického priemeru MMAD (Mass Median of Aerodynamic Diameter) a geometrická štandardná odchýlka GSD (Geometric Standard Deviation). Postup stanovenia týchto parametrov je popísaný prof. Finleym v zdroji [18]. Veľkostné frakcie boli udávané v takzvanej „normalizovanej hmotnosti“, ktorá predstavuje percentuálny podiel hmotnosti častíc danej veľkostnej triedy voči sume hmotností všetkých nameraných častíc<sup>10</sup>. Najväčším úskalím gravimetrickej metódy je

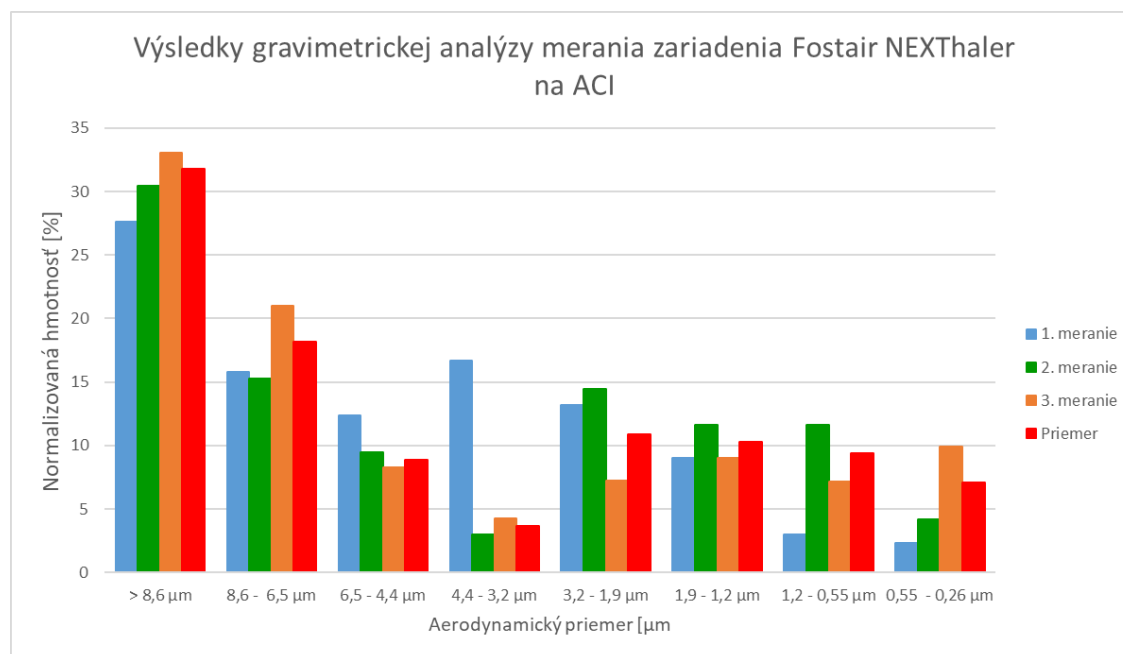
<sup>10</sup>V normalizovanej hmotnosti sú udávané aj výsledky iných metód ako ACI.



však stanovenie neistoty, respektíve jej vysoká hodnota oproti hodnotám naváženým. Navážené údaje spolu s rozšírenými neistotami merania sú uvedené v *Tabuľke 3*. a ich priemerné hodnoty sú vykreslené v grafe na *obrázku 27*. Zistená hmotnosť častíc väčšinou prevýšila hodnotu neistoty iba pri prvých stupňoch impaktora, kde, ako bolo popísané vyššie, pravdepodobne deponovali nechcene veľké častice. Hmotnosť navážená na týchto plátkoch bola preto výrazne vyššia ako u plátok nasledujúcich.

*Tabuľka 3: Priemerné hmotnosti navážené 10 váženiami každého plátku a ich neistoty.*

Aerodynamický priemer [ $\mu\text{m}$ ]	Druhé meranie		Tretie meranie	
	dM [mg]	Neistota [mg]	dM [mg]	Neistota U [mg]
0,55 - 0,26 [ $\mu\text{m}$ ]	0,31	$\pm 1,00$	0,9	$\pm 1,68$
1,2 - 0,55 [ $\mu\text{m}$ ]	0,86	$\pm 0,99$	0,65	$\pm 0,72$
1,9 - 1,2 [ $\mu\text{m}$ ]	0,86	$\pm 1,45$	0,82	$\pm 0,87$
3,2 - 1,9 [ $\mu\text{m}$ ]	1,07	$\pm 0,94$	0,66	$\pm 0,89$
4,4 - 3,2 [ $\mu\text{m}$ ]	0,22	$\pm 0,88$	0,39	$\pm 0,79$
6,5 - 4,4 [ $\mu\text{m}$ ]	0,7	$\pm 0,69$	0,75	$\pm 0,86$
8,6 - 6,5 [ $\mu\text{m}$ ]	1,13	$\pm 1,02$	1,91	$\pm 1,02$
>8,6 [ $\mu\text{m}$ ]	2,26	$\pm 0,92$	3	$\pm 0,97$



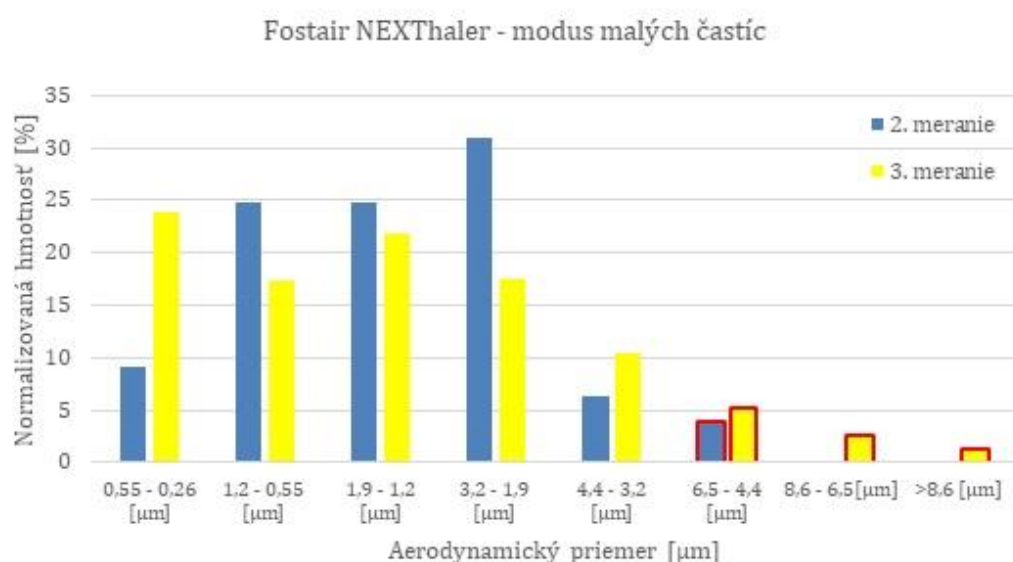
*Obrázok 27: Celá distribúcia Fostair NEXThaleru stanovená gravimetricky.*



Hoci pri gravimetrických meraniach sa tento modus v oblasti malých rozmerov zdá byť nevýrazný, jeho dôležitosť potvrdila kvapalinová chromatografia popísaná nižšie. Osamostatnený modus týchto malých rozmerov je znázornený na *obrázku 28*. Keďže pri gravimetrickej analýze neboli zistené frakcie deponované na iných komponentoch impaktora ako na zberných plátkoch, FPF určovaná nebola. Namerané hodnoty by totiž na jej určenie neboli reprezentatívnymi vzorkami. Výsledné mediány MMAD a ich GSD pre pôvodné aj upravené distribúcie sú uvedené v *Tabuľke 4*.

Tabuľka 4: Výsledné MMAD a GSD z gravimetrických meraní inhalátora Fostair NEXThaler pomocou ACI.

	Neupravené 2.	Neupravené 3.	Upravené 2.	Upravené 3.
<b>MMAD [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	5,55	6,91	1,65	1,48
<b>GSD [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	4,63	6,26	1,79	2,43



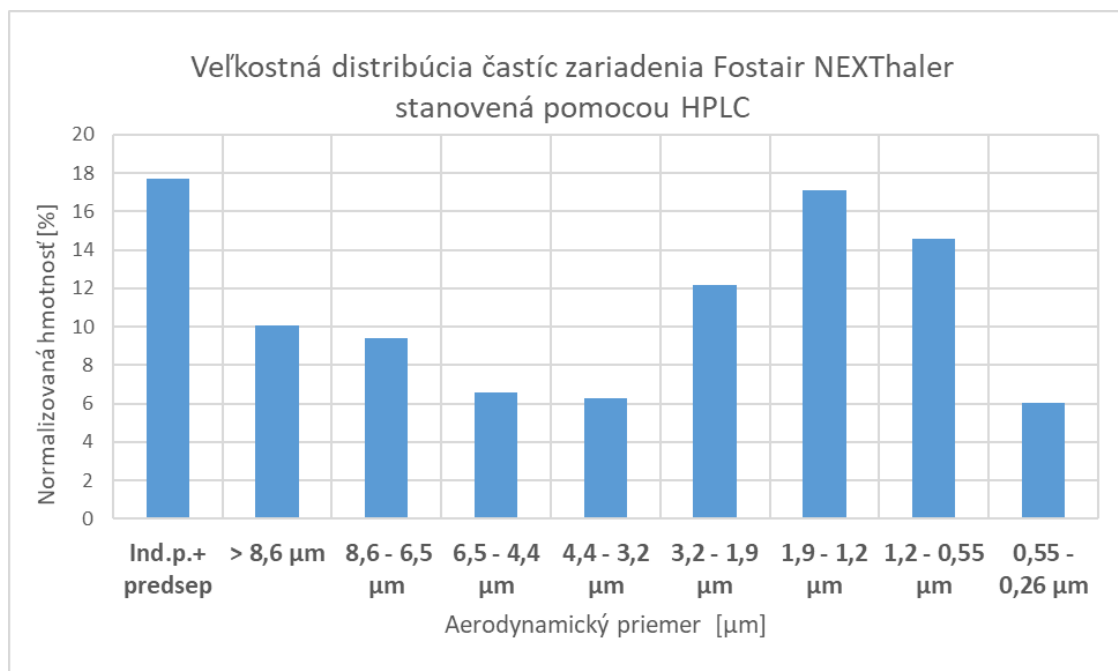
Obrázok 28: Upravená distribúcia nameraná na ACI. Červeným obrysom sú zvýraznené hodnoty, ktoré boli upravené.

### 5.1.2 Chemická analýza parametrov inhalátora Fostair NEXThaler meraných pomocou ACI

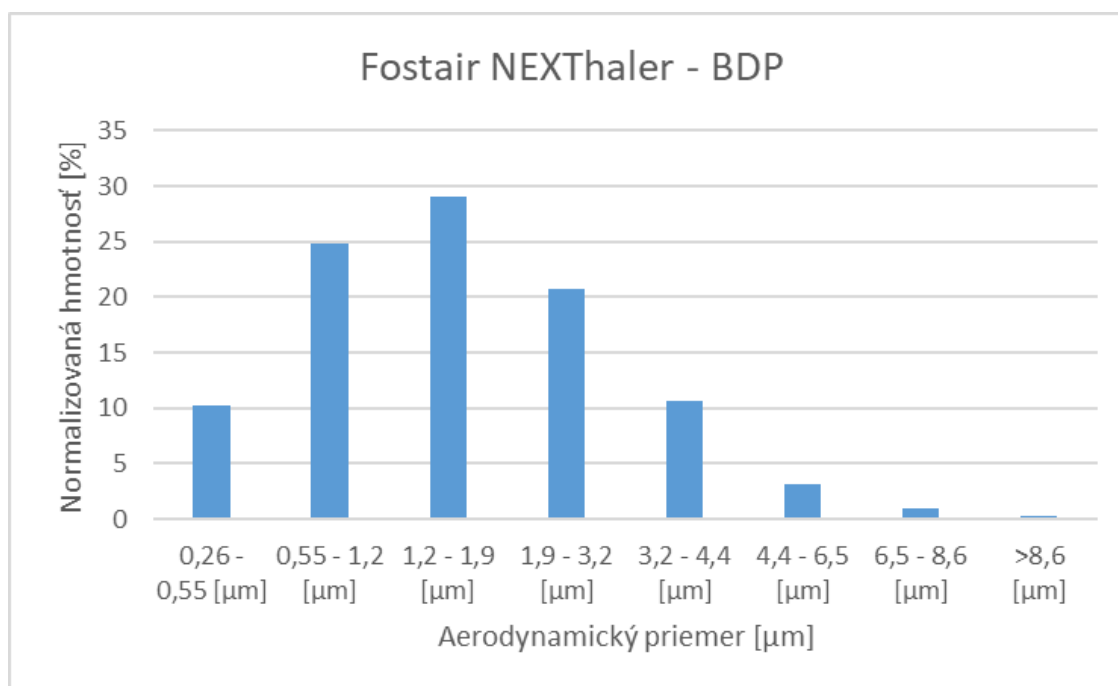
V prípade chromatografickej analýzy merania inhalátora Fostair NEXThaler bolo vyhodnotené iba rozloženie látky beklometazón dipropionát, ktorá je jednou z dvoch účinných látok tohto zariadenia. Takto vyhodnotená distribúcia mala značne zreteľnejší tvar ako gravimetricky vyhodnotené spektrum a je uvedená na *obrázku 29*. Podobne ako pri gravimetrickej analýze, aj pri chromatografickom vyhodnutí je v distribúcii nárast hodnôt v oblasti prvých troch stupňov, no výrazne menší ako v prípade gravimetrie. Nárast v oblasti malých rozmerov je oproti gravimetrii zreteľnejší a má tvar viac pripomínajúci normálne rozloženie (v súradniciach impaktora) ako pri gravimetrii, čo je pravdepodobne dané výrazne vyššou presnosťou analytickej metódy. Pri vyhodnocovaní sa postupovalo rovnakým spôsobom ako pri gravimetrických meraniach, a teda osamostatnením módu častíc malých rozmerov (*obrázok 30*). Z takto upravenej distribúcie bol určený MMAD a GSD (uvedené v *Tabuľke 5*). Hodnota FPF bola stanovená z neupravenej distribúcie ako frakcia častíc menších ako  $5\ \mu\text{m}$  z celkového nameraného množstva BDP, to znamená suma zo všetkých stupňov, predseparátora a vstupného hrdla impaktora.

Tabuľka 5: Výsledky merania zariadenia Fostair NEXThaler pomocou HPLC.

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
BDP - upravené	1,56	2,02	
BDP - neupravené	3,20	3,22	<b>58,12</b>



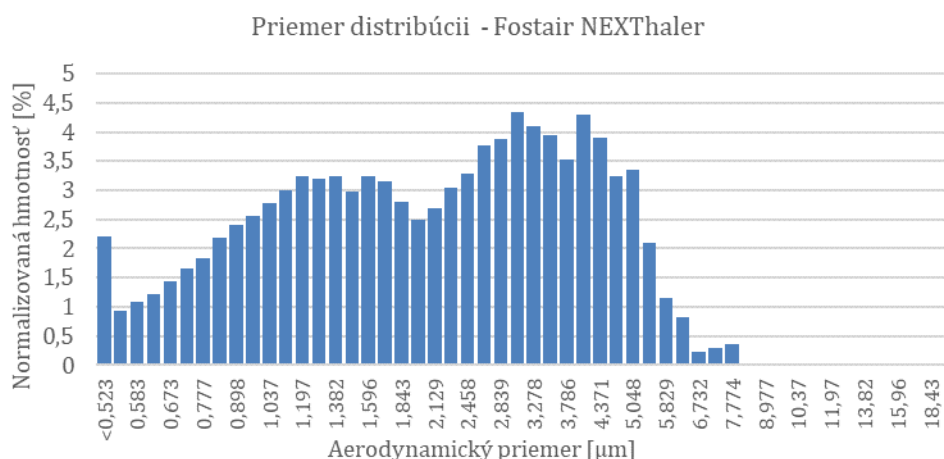
Obrázok 29: Veľkostná distribúcia častíc zariadenia Fostair NEXThaler stanovená pomocou HPLC.



Obrázok 30: Osamostatnený modus malých častíc z merania zariadenia Fostair NEXThaler pomocou HPLC.

### 5.1.3 Meranie veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Fostair NEXThaler pomocou APS

Veľkostné spektrum častíc inhalátora bolo overované taktiež pomocou APS. Uvádzané hodnoty boli získané ako priemer 6 rovnakých meraní pomocou utesneného boxu (popísané v metodologickej časti). Nameraná distribúcia bola taktiež bimodálna, avšak s časticami v rozmedzí približne 0 — 6  $\mu\text{m}$  (obrázok 31) a jej parametre sú uvedené v tabuľke 6. Takýto jav je u DPI pochopiteľný, pretože prášok sa vždy skladá z viacerých zložiek (liečivo, nosič atď.), a v prípade Fostair NEXThaleru náplň obsahuje dve účinné látky. Pri analýze tejto distribúcie sa postupovalo obdobne ako v prípade meraní na impaktore. Oba vrcholy spektra boli osamostatnené spôsobom popísaným v začiatku podkapitoly 5.1 (obrázky 32 a 33 znázorňujú mód malých častíc, obrázok 34 mód väčších častíc). Parametre osamostatnených distribúcií (tabuľka 7 a tabuľka 8) boli určené aj z kumulatívnej distribúcie spriemerovaného súboru, aj z distribučnej funkcie, ktorou bol tento súbor preložený v prostredí MATLAB pomocou aplikácie DistributionFitter.



Obrázok 31: Spriemerované normalizované hmotnosti jednotlivých tried veľkostného rozloženia častíc Fostair NEXThaleru merané na APS.

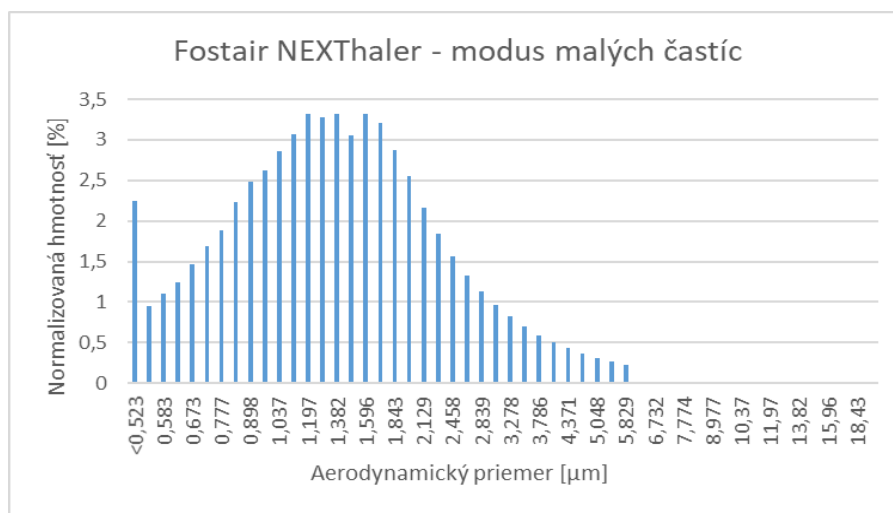
Tabuľka 6: Parametre distribúcie častíc Fostair NEXThaler nameranej pomocou APS (Obrázok 33)

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
Celá distribúcia	2,13	1,91	95,05

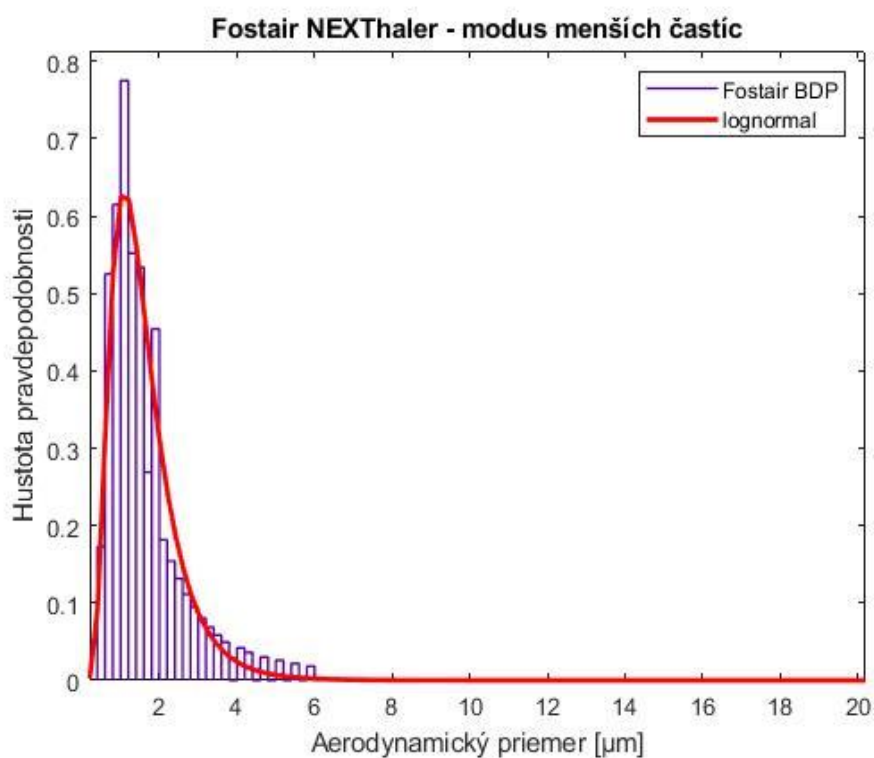
#### Osamostatnený modus malých častíc:

Tabuľka 7: Parametre módu malých častíc stanovené priamo zo spriemerovaného súboru meraní na APS a po preložení lognormálnou distribučnou funkciou.

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
APS	1,33	1,71	99,19
Lognorm	1,42	2,12	99,37



Obrázok 33: Modus malých častíc z distribúcie zariadenia Fostair v súradniciach APS.

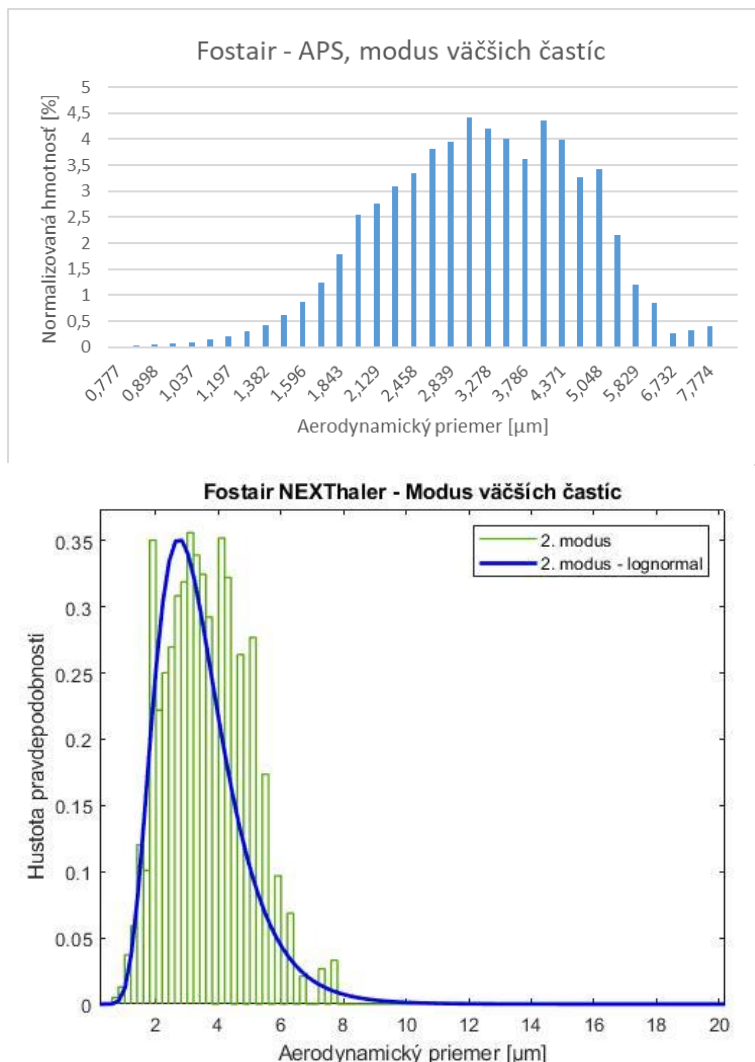


Obrázok 32: Modus menších častíc aerosólu Fostair NEXThaleru preložený lognormálnou distribúciou.

### Osamostatnený modus väčších častíc:

Tabuľka 8: Parametre módu väčších častíc stanovené priamo zo spriemerovaného súboru meraní na APS a po preložení lognormálnou distribučnou funkciou.

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
APS	3,11	1,47	91,59
Lognorm	3,17	1,47	88,09



Obrázok 34: Hore: Rozloženie osamostatneného nárastu väčších častíc v logarimických súradniciach.  
Dole: Modus väčších častíc preložený lognormálnou distribučnou funkciou.

## 5.2 Brimica Genuair

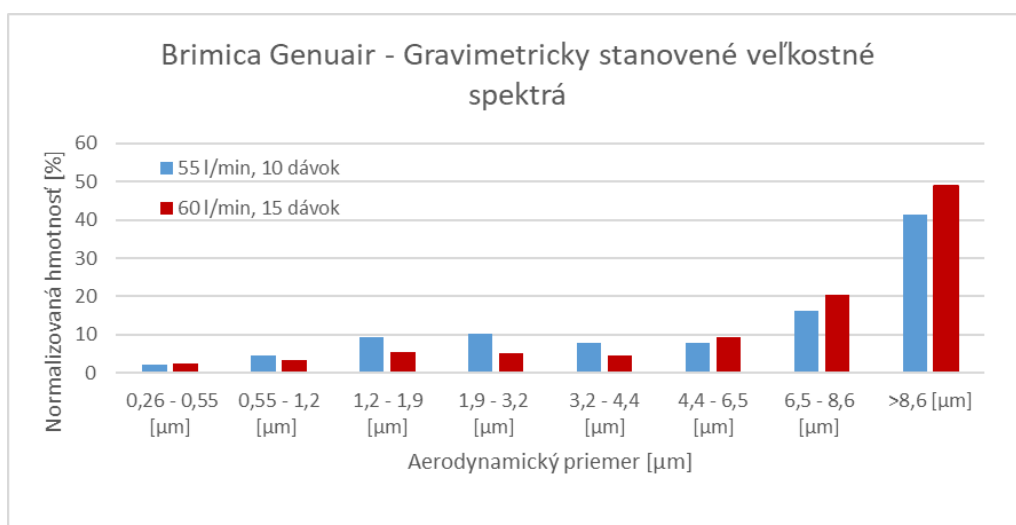
### 5.2.1 Gravimetrická analýza merania inhalátora Brimica Genuair na ACI

Podobne ako v prípade Fostairu, aj pri zariadení Brimica Genuair, neistota často presahovala naváženú hmotnosť. Výsledky uvedené v *Tabuľke 9*, predstavujú priemer troch meraní pri prietoku približne 55 l/min a pri neúplne utesnenom impaktore, kde pri každom z meraní bolo nasatých 10 dávok, a troch meraní s utesneným impaktorom a prietokom 60 l/min, pri ktorých bolo nasatých 15 dávok. Keďže vysoké hodnoty frakcií vyšších rozmerov boli považované za chybu merania, podobne ako u Fostairu, boli tieto hodnoty nahradené a distribučné funkcie boli určené z takto okresaných údajov. Podobne ako pri gravimetrickej analýze Fostair NEXThaleru, ani v tomto prípade nebola stanovená FPF, pretože nebolo merané množstvo častíc deponovaných na iných plochách ako na zberných plátkoch impaktora. *Obrázok 35* znázorňuje celú

nameranú veľkostnú distribúciu, *obrázok 36* osamostatnený mód malých častíc. Parametre po osamostatnení módu sú uvedené v *tabuľke 10*

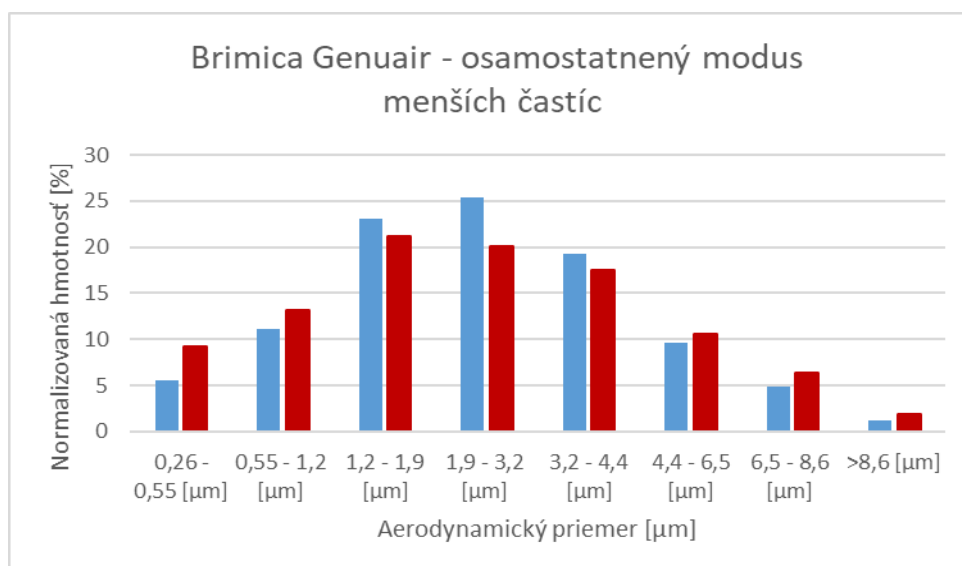
*Tabuľka 9: Spriemerované navážené hmotnosti na zberných plátkoch impaktora pri oboch typoch merania a im prislúchajúce rozšírené neistoty U.*

	55 l/min, 10 dávok		60 l/min, 15 dávok	
Aerodynamický priemer	dM [mg]	U1 [mg]	dM [mg]	U2 [mg]
0,55 - 0,26 [ $\mu\text{m}$ ]	0,36	$\pm 0,77$	0,65	$\pm 0,89$
1,2 - 0,55 [ $\mu\text{m}$ ]	0,73	$\pm 0,89$	0,93	$\pm 1,06$
1,9 - 1,2 [ $\mu\text{m}$ ]	1,52	$\pm 1,59$	1,50	$\pm 1,37$
3,2 - 1,9 [ $\mu\text{m}$ ]	1,68	$\pm 0,93$	1,42	$\pm 0,97$
4,4 - 3,2 [ $\mu\text{m}$ ]	1,27	$\pm 0,89$	1,24	$\pm 1,31$
6,5 - 4,4 [ $\mu\text{m}$ ]	1,27	$\pm 1,06$	2,50	$\pm 1,08$
8,6 - 6,5 [ $\mu\text{m}$ ]	2,60	$\pm 0,98$	5,55	$\pm 1,77$
>8,6 [ $\mu\text{m}$ ]	6,68	$\pm 0,81$	13,25	$\pm 1,02$



*Obrázok 35: Rozloženie navážených hmotností na impaktore pri oboch typoch merania.*





Obrázok 36: Veľkostná distribúcia po nahradení hodnôt prvých troch stupňov.

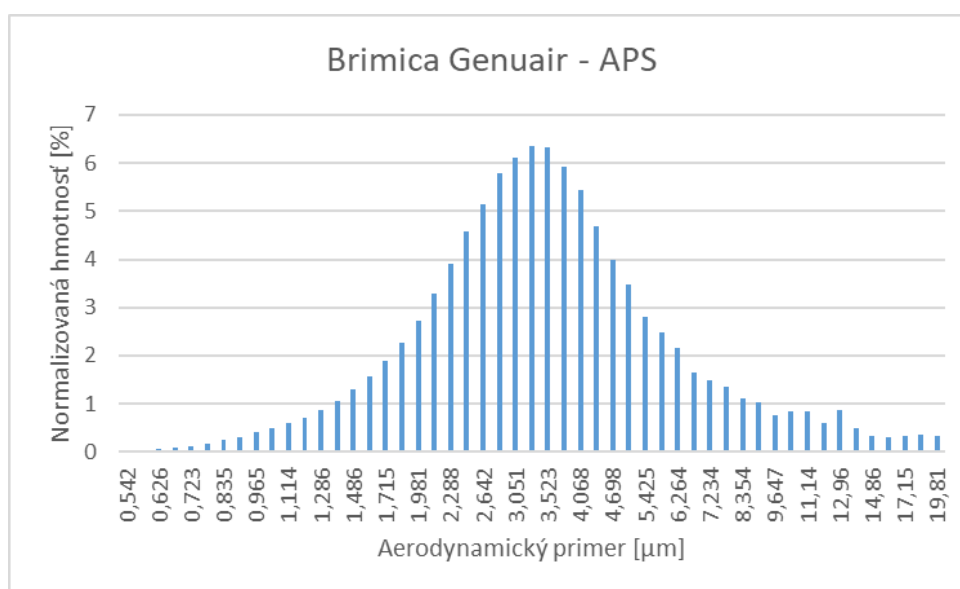
### Osamostatnený mód malých častíc:

Tabuľka 10: Parametre distribúcií po nahradení hodnôt prvých troch stupňov impaktora. (Obrázok 27)

	MMAD [μm]	GSD [μm]
55 l/min, 10 dávok	2,43	1,80
60 l/min, 15 dávok	2,31	2,14

## 5.2.2 Meranie inhalátora Brimica Genuair pomocou APS

Nižšie uvedené výsledky boli získané ako priemer siedmich rovnakých meraní zariadenia Brimica Genuair na APS. Z takto spriemerovanej distribúcie bola vytvorená kumulatívna distribúcia a z nej boli stanovené parametre rovnako ako v prípade

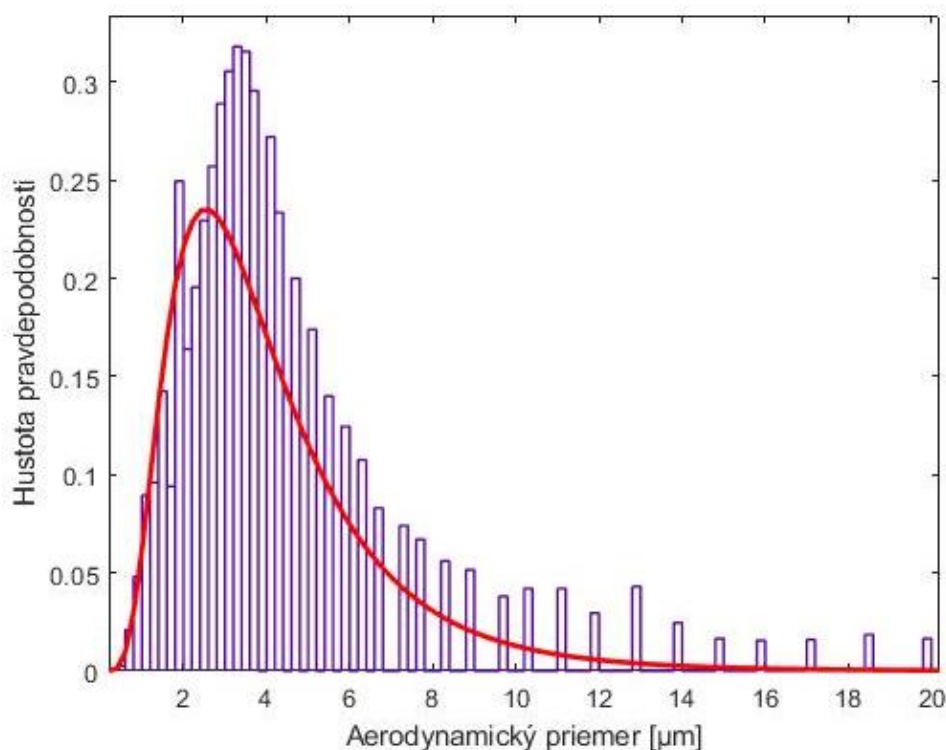


Obrázok 37: Veľkostné spektrum v súradniciach APS.

zariadenia Fostair NEXThaler. Spektrum bolo v MATLABe preložené lognormálnou distribučnou funkciou a parametre rozloženia boli stanovené aj z tejto funkcie. Veľkostné spektrá sú vykreslené na *obrázku 37* a *obrázku 38*, a parametre distribúcií sú uvedené v *Tabuľke 11*.

*Tabuľka 11: Parametre veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Brimica Genuair merané pomocou APS.*

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
Lognorm	3,50	1,77	73,42
z APS	3,35	1,69	79,84



*Obrázok 38: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zariadenia Brimica Genuair stanovená pomocou APS, preložená lognormálnou distribučnou funkciou.*

## 5.3 Atrovent

MDI zariadenie Atrovent bolo merané tromi metódami. Pomocou ACI bez použitia spaceru, s použitím spaceru typu OptiChamber a pri navýšení počtu dávok na meranie až na 130, pomocou APS, LDA a PDA metódy

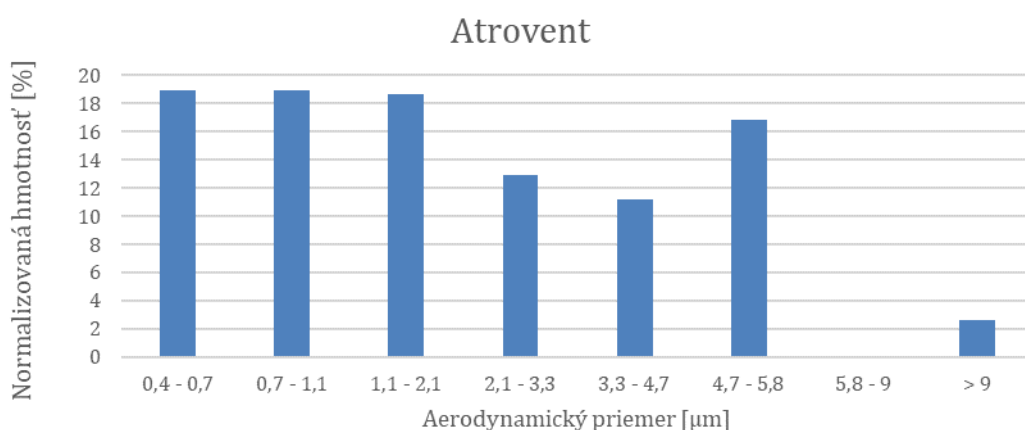
### 5.3.1 Meranie MDI Atrovent pomocou ACI pri gravimetrickej analýze.

Pri gravimetrickom meraní veľkostnej distribúcie MDI Atrovent pomocou ACI boli navážené hodnoty pri všetkých stupňoch menšie ako rozšírené neistoty, a to aj v prípade navýšenia množstva použitých dávok na 130 (pravdepodobne preto, že väčšina častíc sa v dôsledku vysokej rýchlosti usadila už vo vstupnom hrdle impaktora). Navyše pri meraniach s použitím 20 dávok bolo zistené rozloženie hmotnosti akoby náhodne rozložené, respektíve nemalo očakávaný tvar distribúcie, ale pôsobilo chaoticky, preto boli tieto merania považované za chybné a vyhodnocované bolo iba meranie so 130 emitovanými dávkami, ktorého distribúcia bola tiež podozrivá,

no nebola približne rovnomerná na všetkých stupňoch impaktora (obrázok 39). Navážené hodnoty sú uvedené v tabuľke 12 a parametre nameranej distribúcie v tabuľke 13.

Tabuľka 12: Navážené hodnoty pri gravimetrickom meraní zariadenia Atrovent spolu s rozšírenými neistotami U.

Aerodynamický priemer [ $\mu\text{m}$ ]	dM [mg]	U [mg]
0,7 - 0,4	1,25	1,56
1,1 - 0,7	1,25	1,30
2,1 - 1,1	1,23	1,23
3,3 - 2,1	0,85	0,94
4,7 - 3,3	0,74	1,27
5,8 - 4,7	1,11	1,11
9 - 5,8	0,00	1,11
>9	0,17	0,63



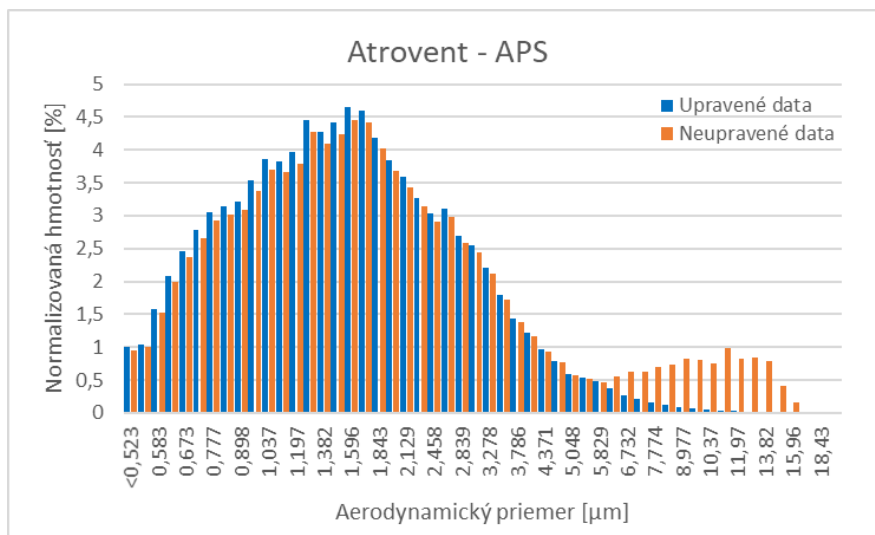
Obrázok 39: Veľkostné rozloženie častíc aerosólu inhalátora Atrovent stanovené gravimetricky pomocou ACI.

Tabuľka 13: Parametre veľkostnej distribúcie inhalátora Atrovent stanovené gravimetricky pomocou ACI.

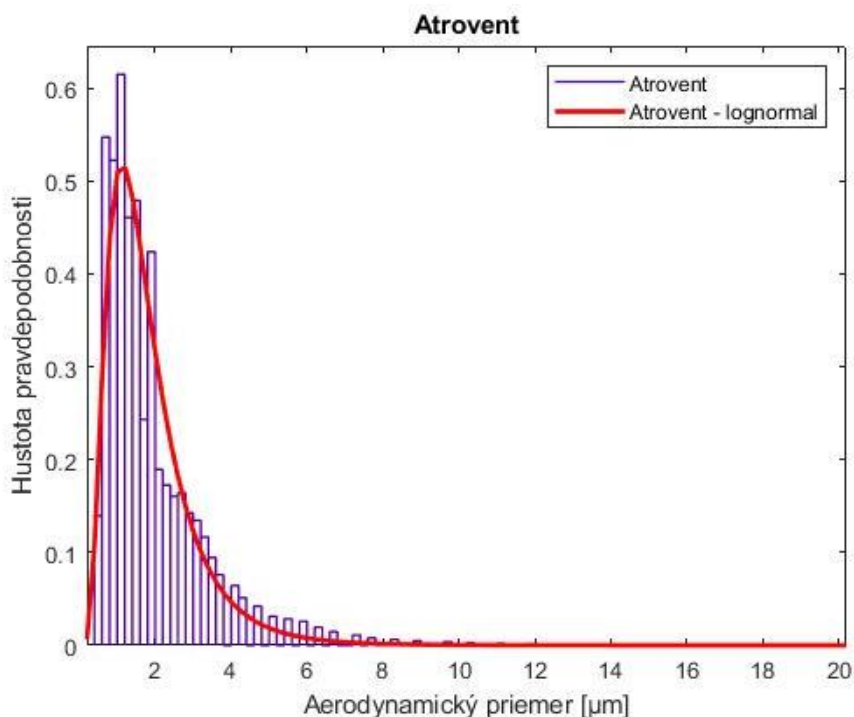
	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]
Atrovent ACI	1,75	2,81

### 5.3.2 Meranie MDI Atrovent pomocou APS

Aerosólový dávkovač bol taktiež premeraný pomocou zariadenia APS. Uvedená distribúcia je priemerom piatich vzoriek. V oblasti väčších častíc sa objavuje jemný nárast hmotnosti, ktorý bol zo spektra odstránený podobnou náhradou ako v predchádzajúcich prípadoch. Distribúcia je zobrazená na *Obrázku 40*. Podobne ako v predchádzajúcich prípadoch bola upravená distribúcia preložená lognormálnou distribučnou funkciou (*obrázok 41*). Parametre týchto distribúcií sú uvedené v tabuľke



Obrázok 40: Veľkostné spektrum častíc aerosólového dávkovača Atrovent stanovené pomocou APS pred úpravou a po úprave dátového súboru.



Obrázok 41: Veľkostné spektrum aerosólu zo zariadenia Atrovent stanovené pomocou APS a preložené lognormálnou distribučnou funkciou.

Tabuľka 14: Parametre neupravenej a upravenej veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Atrovent a distribúcie preloženej lognormálnou distribučnou funkciou.

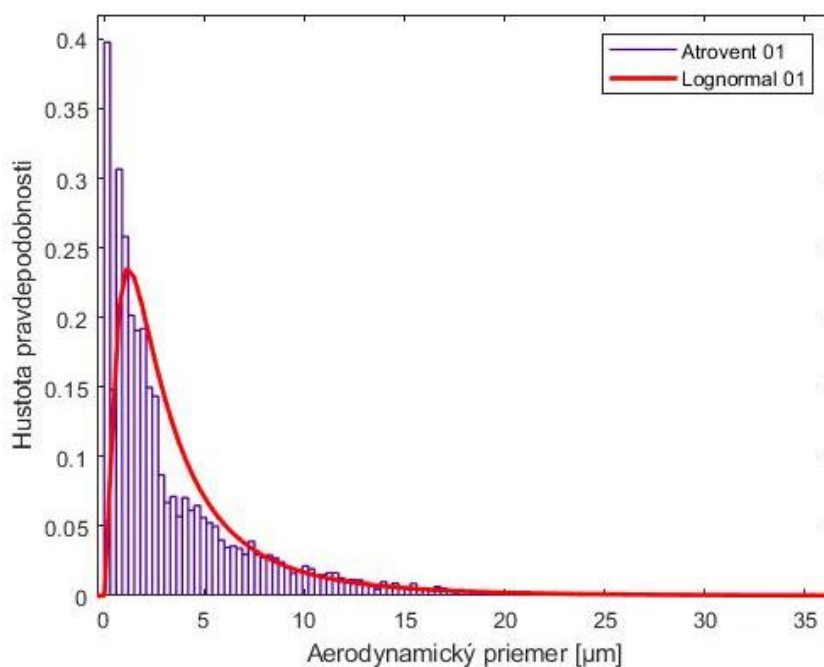
	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
Pôvodná	1,57	2,19	89,37
Upravená	1,47	1,87	97,42
Lognormalna	1,57	1,78	97,73

### 5.3.3 Meranie MDI Atrovent pomocou PDA

Pomocou PDA boli vykonané tri merania zariadenia Atrovent. Pri analýze výsledkov boli častice menšie ako  $0,5 \mu\text{m}$  (menšie ako vlnová dĺžka použitého lúča) zo štatistického súboru vylúčené, pretože metóda nie je schopná tieto častice spoľahlivo merať. V tabuľke 15 sú uvedené parametre lognormálnych distribúcií, ktorými boli údaje preložené, z nich určený medián distribúcie, medián distribúcie určený zo surových dát bez preloženia distribučnou funkciou, FPF stanovená z lognormálnej distribučnej funkcie a taktiež FPF určená z rovnakých „surových“ údajov. Na obrázku 42. je znázornená veľkostná distribúcia prvého z troch meraní. Častice menšie ako  $0,5 \mu\text{m}$  sú síce na obrázku vykreslené, no do lognormálnej distribučnej funkcie započítané neboli.

Tabuľka 15: Výsledky merania zariadenia Atrovent pomocou PDA.

	Medián lognormal [ $\mu\text{m}$ ]	FPF lognormal [%]	Medián [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
1	2,81	73,41	2,53	60,17
2	2,75	73,69	2,50	59,31
3	2,74	74,47	2,47	62,68
Priemer:	2,77	73,86	2,50	60,72



Obrázok 42: Veľkostná distribúcia 1. merania zariadenia Atrovent pomocou PDA.

### 5.3.4 Meranie MDI Atrovent pomocou LDA systému

Popri meraní veľkostnej distribúcie bol stanovený taktiež rýchlostný profil v horizontálnej osi vo vzdialenosti 2,5 cm do oboch strán od dýzy. Rýchlosť nameraná v 6 bodoch vo vzdialenosti 1 cm od seba bola preložená parabolou a vyhladzovacím splajnom. *Tabuľka 16* uvádza namerané rýchlosti vo zvolených bodoch horizontálnej roviny, *obrázok 43* znázorňuje ich preloženie a vykreslenie rýchlostného profilu.

*Tabuľka 16: Rýchlostný profil v horizontálnej rovine.*

<i>X [mm]</i>	<i>Axiálna rýchlosť [m/s]</i>
-25,00	1,13
-15,00	2,08
-5,00	4,16
5,00	4,63
15,00	2,36
25,00	0,90

#### Parametre paraboly:

$$f(x) = p_1x^2 + p_2x + p_3$$

4.

s koeficientami (s 95% intervalom spoľahlivosti):

$$p_1 = -0,001472$$

$$p_2 = -0,001988$$

$$p_3 = 1,054$$

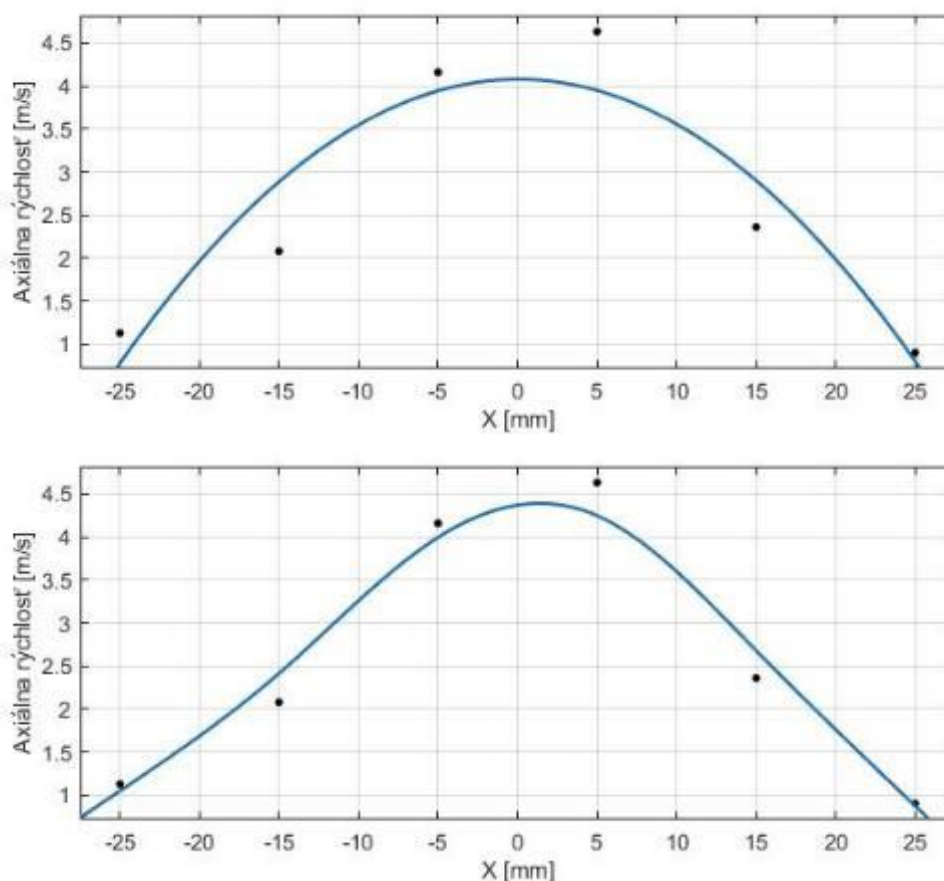
#### Parametre splajnu:

$f(x)$  = po častiach polynóm s vyhladzovaním parametrom  $p$

vyhladzovací parameter:

$$p = 0,0089197225$$



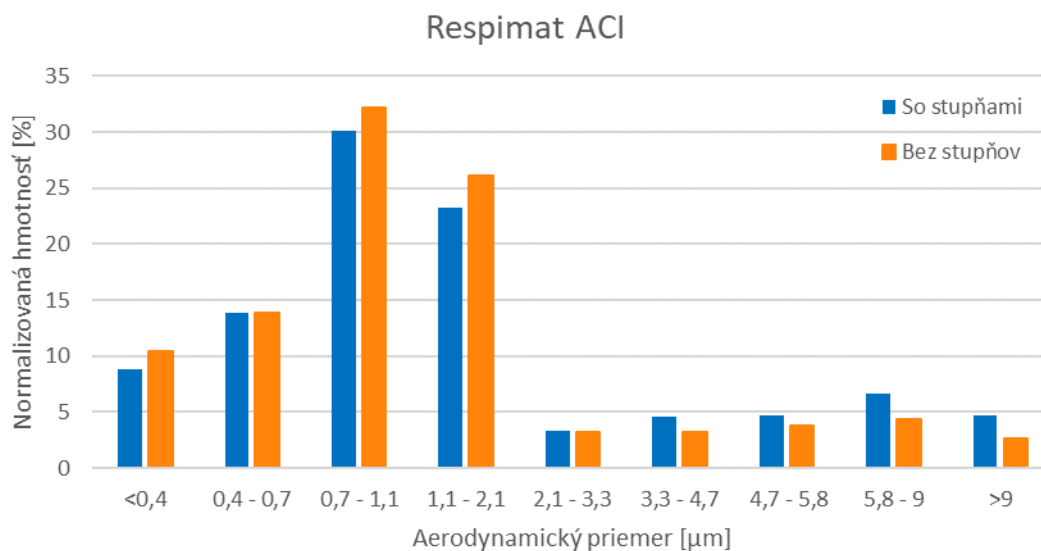


Obrázok 43: Horný graf uvádza preloženie rýchlostného profilu parabolickou funkciou, spodný graf uvádza preloženie vyhladzovacím splajnom.

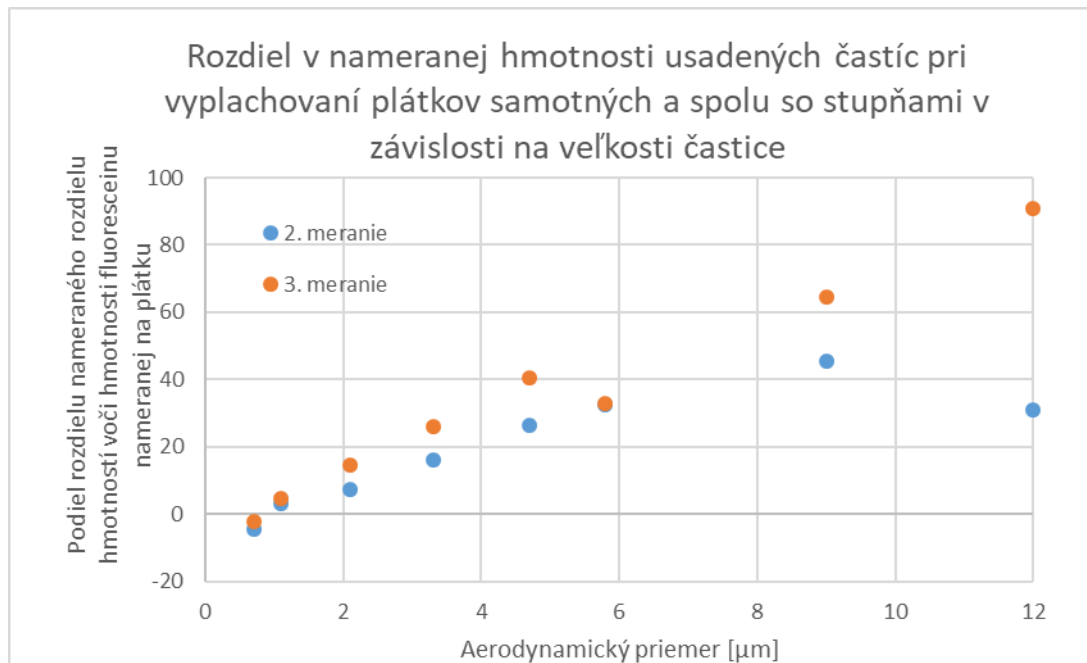
## 5.4 Respimat SMI

### 5.4.1 Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou ACI

V prípade zariadenia Respimat SMI bol na meranie využitý roztok fluoresceínu, ako je popísané v metodologickej časti práce, a tak boli určené aj frakcie častíc deponovaných vo vstupnom hrdle ACI, predseparátore a na filtri. Na určenie veľkostnej distribúcie tieto frakcie využité neboli, no umožnili určiť FPF ako frakciu častíc menších ako  $5\ \mu\text{m}$  z celkového množstva častíc deponovaných na všetkých komponentoch. Taktiež pre získanie predstavy o rozdielnosti analýzy pri extrahovaní častíc iba zo zberných plátkov a z plátkov spolu so stupňami boli vyhodnotené obe varianty jedného merania – bez stupňov a so stupňami. Na *obrázku 44* je uvedené veľkostné namerané veľkostné spektrum a *obrázok 45* znázorňuje vplyv vyplachovania stupňov na nameranú distribúciu. Tento vplyv je uvedený ako rozdiel hmotnosti deponovaného fluoresceínu nameraného pri vyplachovaní plátkov a vyplachovaní plátkov spolu so stupňami, podelený množstvom fluoresceínu zmeraného pri vyplachovaní plátkov bez stupňov impaktora.



Obrázok 44: Veľkostné rozloženie častíc zariadenia Respimat SMI merané na ACI pomocou fluorescence.



Obrázok 45: Vplyv vyplachovania stupňov, teda rozdiel zisteného množstva deponovaných častíc danej veľkostnej triedy pri vyplachovaní stupňov a bez neho vyjadrený ako percento z množstva deponovaného na plátku.

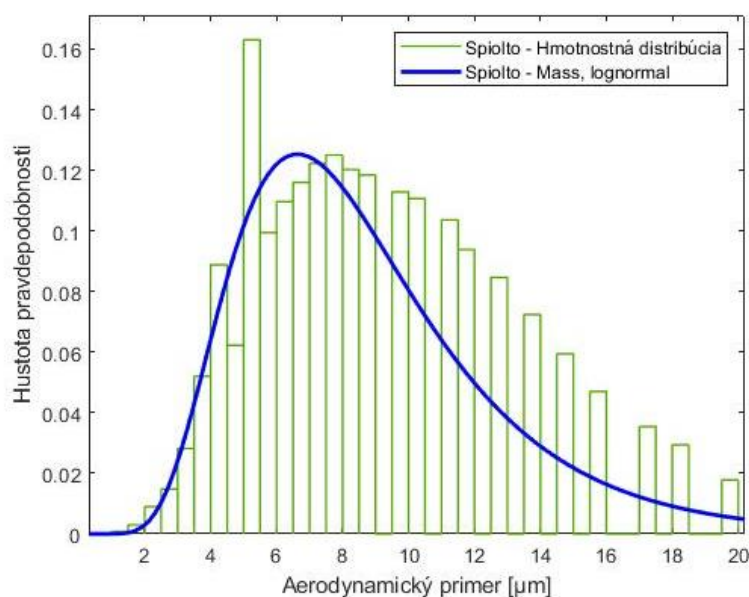
Tabuľka 17: Výsledky merania zariadenia Respimat SMI na ACI.

	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
1.	1,05	1,96	63,37
2.	0,94	2,11	80,64
3.	1,08	2,25	76,37
2. so stupňami	0,98	2,44	78,99
3. so stupňami	1,31	4,33	73,61

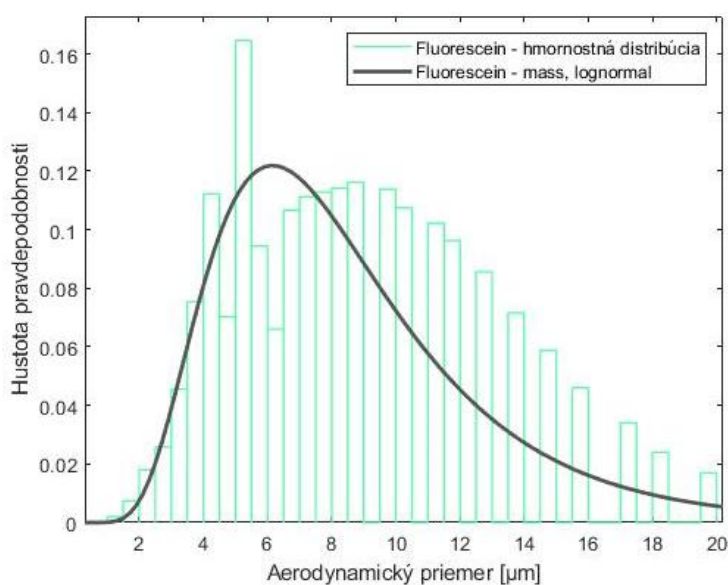
#### 5.4.2 Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou APS

Okrem samotného určenia veľkostného spektra častíc slúžilo meranie na APS na overenie parametrov aerosólu pri použití náplne s roztokom fluoresceínu. Otázne bolo, či aerosól z roztoku fluoresceínu s koncentráciou 3 mg/ml má rovnaké vlastnosti ako aerosól s použitím náplne s liečivom. Distribúcia bola stanovená ako priemer veľkostných rozložení 10 meraní. Podobne ako v prípade meraní Atroventu na APS, aj v tomto prípade došlo k miernemu nárastu hmotností v oblasti väčších rozmerov, a tak bola distribúcia obdobným spôsobom upravená.

Pri meraní zariadenia Respimat SMI bola zistená závislosť výsledného veľkostného spektra od spôsobu dávkovania. Pri snahe o čo najkontinuálnejšie dávkovanie (jedna dávka za druhou) bolo spektrum posunuté k hodnotám MMAD približne 8  $\mu\text{m}$  (Obrázok 46 a 47, tabuľka 18). Pri porovnávaní fluoreskujúceho aerosólu s aerosólom liečiva bol aerosól dávkovaný s čo najvyššou frekvenciou, pretože v autorovej bakalárskej práci [8] pri určení početnostnej veľkostnej distribúcie, sa takýto postup javil ako ideálny. Pri ďalších meraniach bola závislosť hmotnostného veľkostného rozloženia od spôsobu dávkovania identifikovaná, a tak boli ďalšie veľkostné distribúcie merané pri dávkovaní s nižšou frekvenciou. Pri takomto spôsobe dávkovania (cca 1 dávka za 4 s) sa distribúcia posunula k nižším hodnotám (približne 5  $\mu\text{m}$ ) (Obrázok 48).



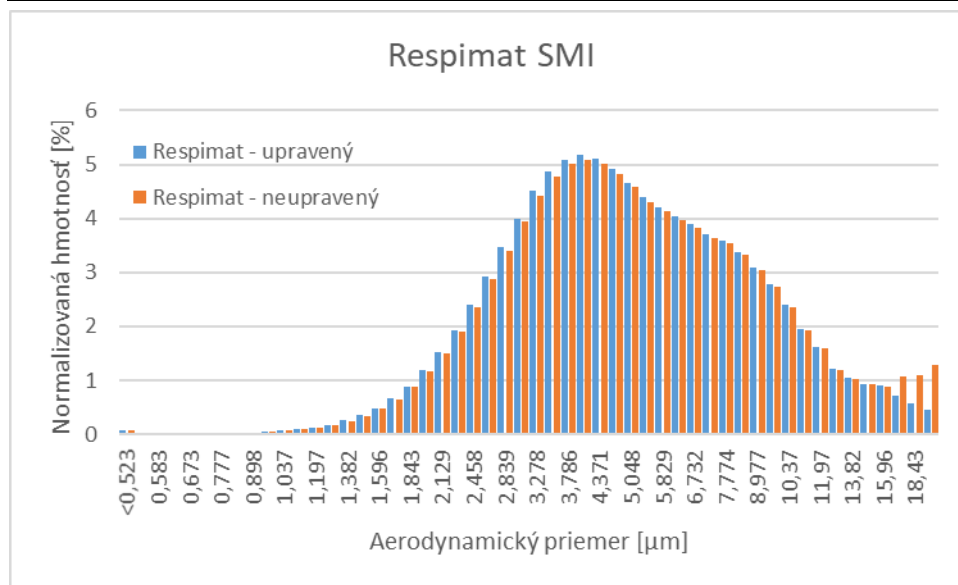
Obrázok 46: Veľkostná distribúcia aerosólu zariadenia Respimat s náplňou Spiolto preložená lognormálnou distribučnou funkciou.



Obrázok 47: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu preložená lognormálnou distribučnou funkciou.

Tabuľka 18: Porovnanie parametrov distribúcie častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI pomocou APS pri náplni Spiolto a náplni s roztokom fluoresceínu.

Kontinuálne dávkovanie	MMAD [ $\mu\text{m}$ ]	GSD [ $\mu\text{m}$ ]	FPF [%]
Fluoresceín	8,29	1,58	17,88
Spiolto	8,38	1,58	12,97
	MMAD logn [ $\mu\text{m}$ ]	GSD logn [ $\mu\text{m}$ ]	FPF logn [%]
Fluoresceín	7,71	1,60	18,09
Spiolto	8,02	1,55	13,93



Obrázok 48: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zo zariadenia Respimat SMI Placebo pri dávkovaní s nižšou frekvenciou. Porovnanie neupravenej distribúcie a osamostanenej distribúcie

Pri dávkovaní s nižšou frekvenciou bol meraný Respimat s náplňou Placebo. Veľkostná distribúcia bola stanovená ako priemer z 10 meraní (obrázok 48), pričom jej parametre boli určené z kumulatívneho rozloženia, a taktiež preložením distribučnou funkciou v prostredí MATLAB (tabuľka 19). Ako už bolo spomínané vyššie, táto distribúcia bola osamostatnená nahradením drobného nárastu hmotností v oblasti väčších častíc

Tabuľka 19: Parametre veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Respimat s náplňou Placebo stanovenej na APS pri dávkovaní s frekvenciou cca 1 dávka za 4 s.

	MMAD [μm]	GSD [μm]	FPF [%]	MMAD logn [μm]	GSD logn [μm]	FPF logn [%]
Upravený	4,669094	1,863009	55,09533	5,01718992	1,744066	49,75
Neupravený	4,731951	1,897103	54,13607	5,124536	1,788185	48,31

### 5.4.3 Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou PDA

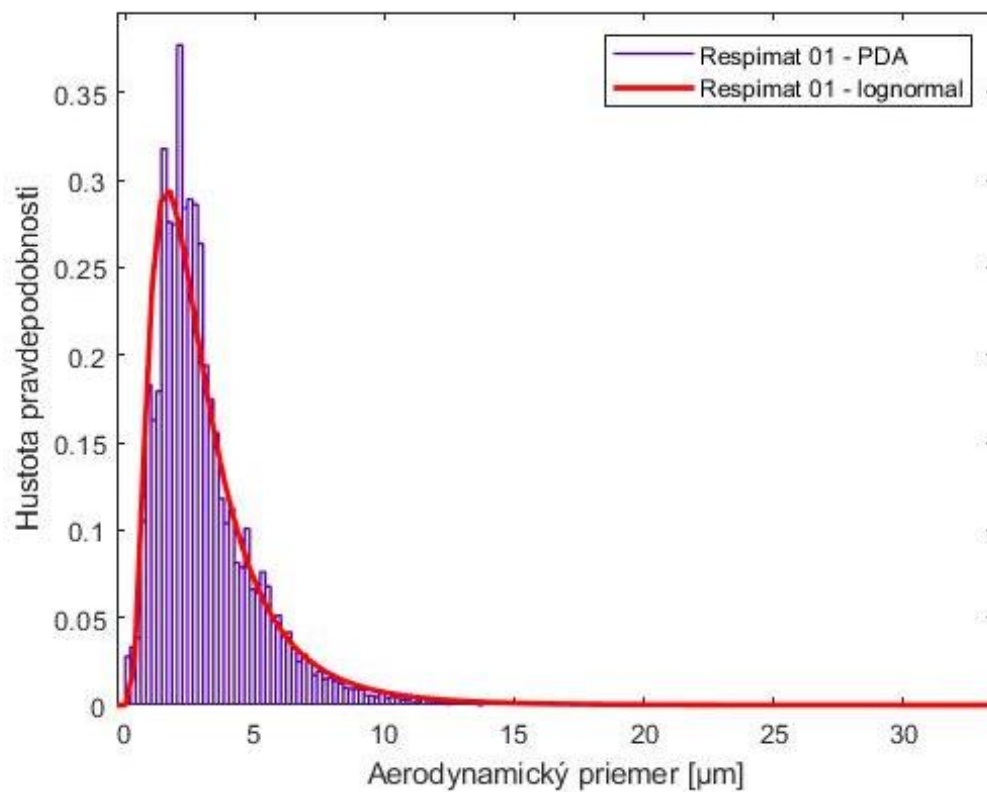
Podobne ako pri meraní pomocou APS, aj pomocou PDA bola okrem samotného určenia veľkostnej distribúcie častíc overená použiteľnosť roztoku fluoresceínu na merania parametrov aerosólu z inhalátora Respimat SMI. V tomto prípade však išlo o meranie optického priemeru častíc a bolo možné stanoviť iba početnostnú distribúciu a z nej dopočítať volumetrickú. Parametre distribúcií sú uvedené v tabuľke 20 a početnostné veľkostné distribúcie sú znázornené na obrázku 49 a 50.

Tabuľka 20: Výsledky merania zariadenia Respimat SMI pomocou PDA. Horná tabuľka predstavuje volumetrické rozloženie a dolná početnostné

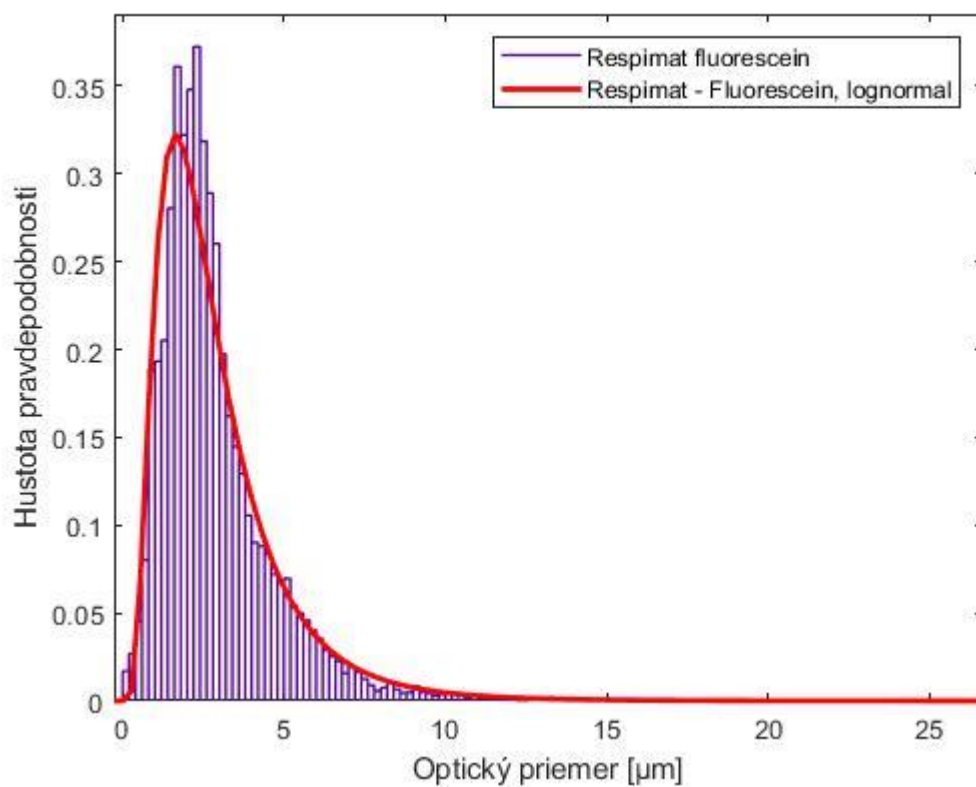
	Dv50 [μm]	GSD [μm]	FPF [%] <5	FPF [%] <5,8
1	7,53	1,90	26,34	32,27
2	7,46	1,91	22,88	32,90
2	6,85	1,61	23,60	36,46
Fluorescein	7,04	2,14	27,89	37,59

	Medián logn [μm]	GSD logn [μm]	FPF logn [%]	Medián [μm]	GSD [μm]	FPF [%]
1.	2,52	1,96	84,62	2,59	1,93	84,06
2.	2,50	1,97	84,71	2,58	1,94	84,37
3.	2,54	1,93	84,91	2,61	1,91	84,29
Fluorescein	2,41	1,86	87,94	2,46	1,83	87,67



Obrázok 49: Početnostná distribúcia aerosólu zo zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meraná systémom PDA a preložená lognormálnou.



Obrázok 50: Početnostná distribúcia aerosólu zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu preložená lognormálnou distribučnou funkciou.



#### 5.4.4 Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou LDA

Rovnako ako v prípade zariadenia Atrovent bol aj u inhalátora Respimat SMI (s náplňou Placebo) zisťovaný rýchlostný profil emitovaného aerosólu v horizontálnej rovine vo vzdialenosti 2,5 cm do oboch strán od dýzy. Rovnako ako u Atroventu bol profil preložený parabolou a splajnom (obrázok 51).

**Parabola:**

$$f(x) = p_1x^2 + p_2x + p_3$$

Koeficienty (s 95% intervalom spoľahlivosti):

$$p_1 = -0,002429$$

$$p_2 = -0,00328$$

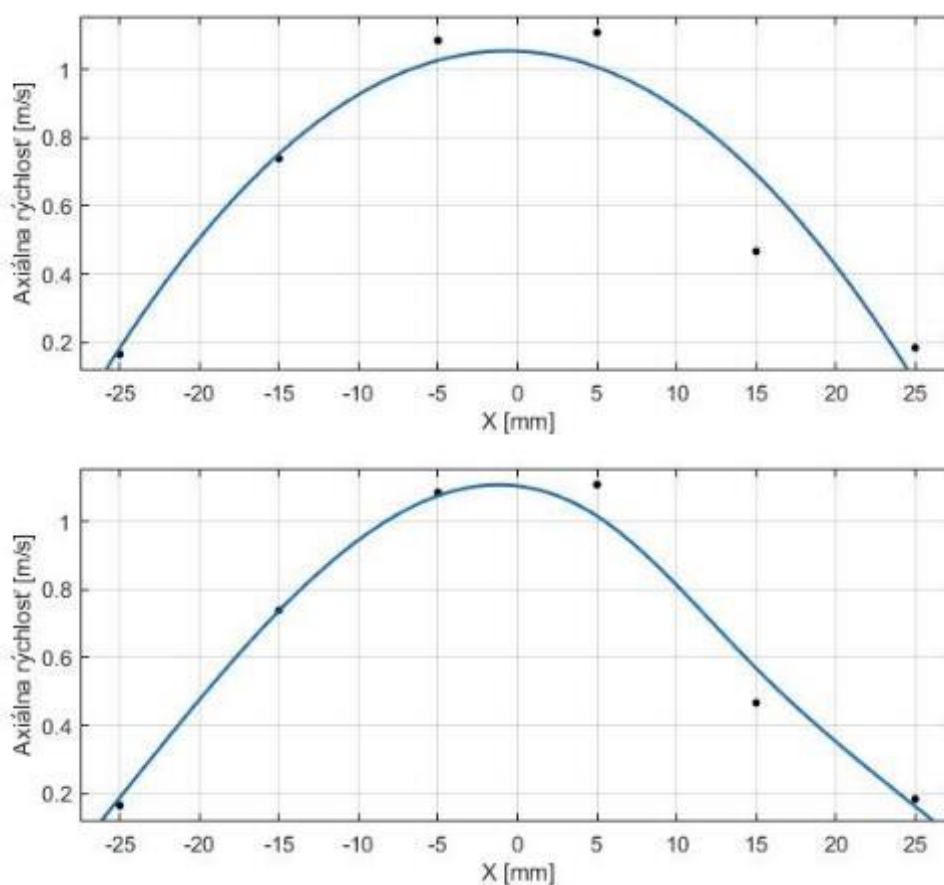
$$p_3 = 1,739$$

**Vyhľadzoací splajn:**

$f(x)$  = po častiach polynóm s vyhladzovaním parametrom  $p$

Vyhľadzoací parameter:

$$p=0,0089197225$$



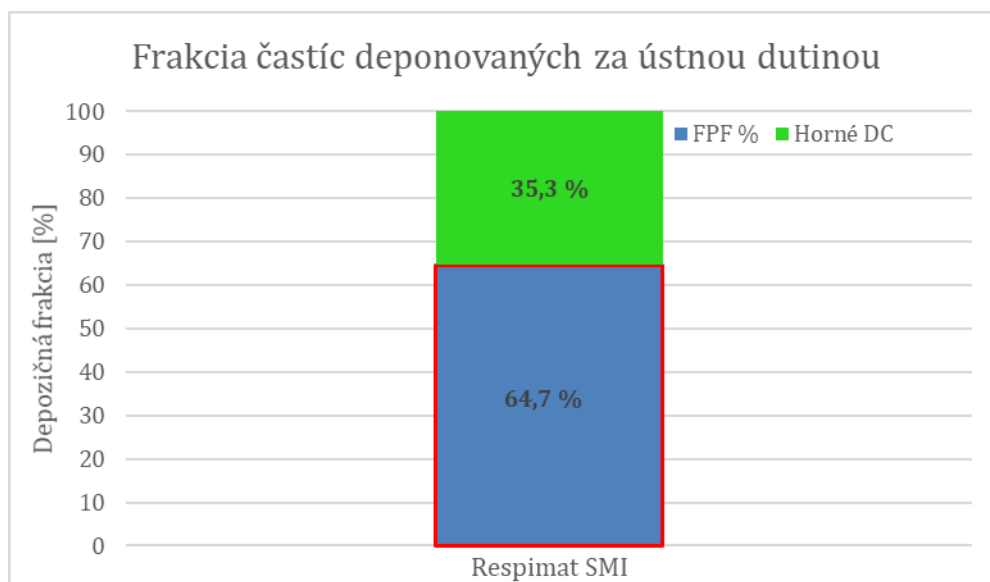
Obrázok 51: Rýchlostný profil zariadenia Respimat SMI preložený parabolou (hore) a splajnom (dole).

### 5.4.5 Meranie deponovanej frakcie v modeli ústnej dutiny

Meranie depozície častíc aerosólu inhalátora Respimat SMI na modeli horných dýchacích ciest bolo vykonané najprv s použitím 10 dávok, neskôr taktiež s použitím 20 dávok na meranie. Z výsledných frakcií častíc, ktoré sa dostali za ústnu dutinu (Tabuľka 20) sa rozdiel medzi meraniami s rôznym počtom dávok zdá ako nepodstatný, respektíve zistené depozičné frakcie mali veľký rozptyl aj v rámci merania s rovnakým počtom dávok. Preto sú nižšie (Obrázok 52) vykreslené ako výsledok jedného dátového súboru.

Tabuľka 21: FPF respektíve frakcia častíc, ktoré sa dostali za ústnu dutinu.

FPF [%]	FPF [%] (10 dávok)	FPF [%] (20 dávok)
1.	58,56	62,29
2.	56,61	66,52
3.	71,07	73,11
Priemer	62,08	67,31
<b>Celkový priemer</b>	<b>64,69</b>	



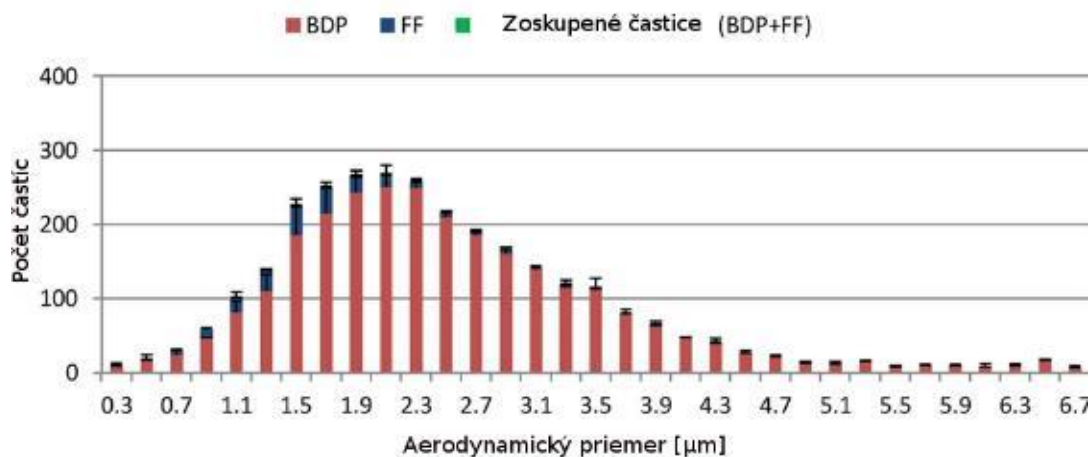
Obrázok 52: Vykreslenie rozdelenia dávky podľa miesta depozície na častice usadené v horných dýchacích cestách a častice, ktoré sa dostali za horné dýchacie cesty.

## 6 Diskusia

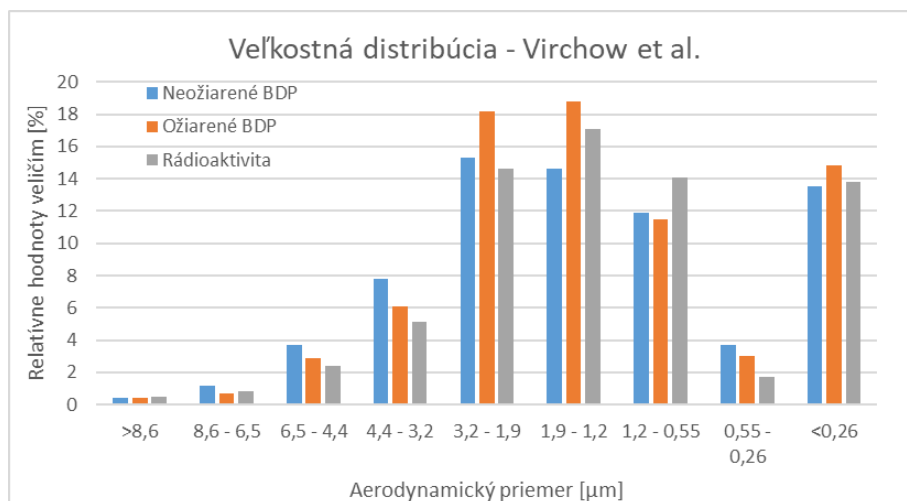
Najväčším obmedzením tejto práce, ktoré uložilo hranice všetkým meraniam bolo množstvo dávok inhalátorov. Keďže metodika viacerých meraní bola odskúšaná až v rámci tejto diplomovej práce, väčšinová časť liečiva bola spotrebovaná ešte pred finálnymi meraniami. Preto sa viacero úskalí v experimentoch nepodarilo prekonať.

### 6.1 Fostair NEXThaler

Fostair NEXThaler je DPI inhalátor určený na dopravovanie extrémne malých častíc beklometazón dipropionátu a formoterol fumarát dihydrátu (FF). Keďže ide o viaczložkový prášok, bolo by vhodné analyzovať jeho parametre chemicky, a to stanovením distribúcií pre všetky zložky liečiva samostatne. Takáto distribúcia, popísaná v zdroji [43], bola stanovená pomocou zariadenia Single Particle Aerosol Mass Spectrometry (SPAMS), čo je zariadenie na princípe time-of flight, ktoré v reálnom čase dopĺňa meranie o chemickú analýzu. Pri tomto meraní, bola určená početnostná distribúcia s mediánom (CMAD - median of aerodynamic diameter) 2,3  $\mu\text{m}$  pre BDP a 1,4  $\mu\text{m}$  pre FF (obrázok 53).



Obrázok 53: Veľkostná distribúcia zariadenia Fostair Nexthaler meraná na Single Particle Aerosol Mass Spectrometry zo zdroja [42]

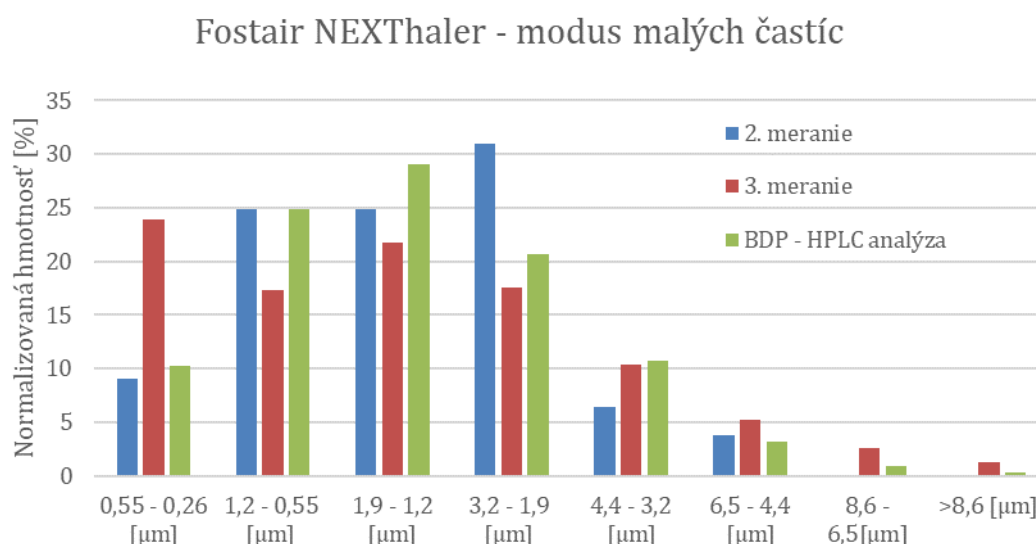


Obrázok 54: Rozloženie BDP namerané pomocou HPLC v zdroji [44]

### 6.1.1 Meranie Fostair NEXThaleru pomocou ACI

Metodikou blízke tejto práci boli merania *Virchowa et al.*, publikované v zdroji [44]. Tieto merania boli vykonané na ACI pričom frakcie boli analyzované pomocou HPLC, ako validácia ožiareného aerosólu (obrázok 54). MMAD stanovené z týchto meraní vyšli ako 1,5  $\mu\text{m}$  pre označený a 1,53  $\mu\text{m}$  pre neoznačený aerosól. [44] Z týchto výsledkov čerpaných z literatúry možno usudzovať, že veľkostné spektrum účinných ingrediencií týchto liečiv sa skutočne pohybuje vo veľmi malých rozmeroch, a samotný výrobca (Chiesi Limited) uvádza v popise produktu MMAD ako 1,4—1,5  $\mu\text{m}$ .

Pri porovnaní, údajov nameraných na ACI v rámci tejto práce a údajov spomínaných v literatúre je medzi výsledkami značný rozdiel. Charakter gravimetricky nameranej distribúcie a distribúcie nameranej pomocou HPLC je znázornený na Obrázku 30 a 31, kde, ako už bolo spomínané, došlo k výraznému nárastu v prvých stupňoch impaktora. To však núka hypotézu, že na prvé stupne impaktora sa dostali častice väčšie ako sa by mali, kvôli tomu, že vstupné diely, ako aj plátky impaktora, neboli potreté surfaktantom, ani inou látkou, ktorá by zamedzila odrážaniu častíc od týchto povrchov. Častice deponované na prvých stupňoch sú s veľkou pravdepodobnosťou aglomeráty, ktoré sa po ceste k prvému stupňu nestihli rozpadnúť. To naznačuje aj nárast týchto frakcií v prípade chemickej analýzy BDP. Samotný BDP, ako aerosól s jednou zložkou, by mal pravdepodobne mať unimodálnu distribúciu, no nárast jeho frakcií na prvých stupňoch naznačuje, že sa na týchto stupňoch usadili častice ktoré sa nedokázali odtrhnúť od nosičov. Pokrytie povrchov plátok surfaktantom nebolo realizované z viacerých dôvodov. V prípade gravimetrie by takéto vrstvy na povrchoch plátok značne skomplikovali proces váženia a boli by veľmi náchylné na poškodenie vzorky. V prípade chemickej analýzy HPLC bola vyhodnotená jedna pokusná vzorka vytvorená vypláchnutím plátku potretého polydimetylsiloxánom (PDMS), kvôli overeniu, či je možná analýza s použitím tohto surfaktantu. Hoci PDMS nezneškodilo vzorku samotnú, kontaminovalo HPLC kolónu a dekontaminácia trvala 24 hodín. Z týchto dôvodov bolo usúdené, že v rámci diplomovej práce budú merania na ACI vykonané bez použitia vrstvy surfaktantu, a overí sa tak využiteľnosť takejto metódy. Z hodnôt nameraných na prvých stupňoch impaktora sa však prítomnosť



Obrázok 55: Upravené distribúcie z 2. a 3. gravimetrického merania spolu s údajmi z HPLC analýzy.

surfaktantu minimálne na povrchoch vstupného hrdla a predseparátora javí ako nevyhnutný. Na zistenie, či by nameraná distribúcia odpovedala očakávaným hodnotám, ak by nedošlo k výraznému nechcenému nárastu deponovaných frakcií na prvých troch stupňoch, boli tieto vysoké hodnoty nahradené tak, ako bolo popísané začiatkom podkapitoly 5.1. Parametre takto upravených distribúcií ( $MMAD_{2-Grav}=1,65\text{ }\mu\text{m}$ ;  $MMAD_{3-Grav}=1,48$ ;  $MMAD_{HPLC}=1,56\text{ }\mu\text{m}$ ) odpovedali požadovaným a očakávaným hodnotám ( $MMAD\ 1,4\text{—}1,5\text{ }\mu\text{m}$ ). Gravimetrické meranie sa však javilo ako nie veľmi spoľahlivé a rozšírené neistoty takmer pri všetkých stupňoch presiahli hodnoty deponovaných frakcií. Naopak, rozloženie analyzované pomocou HPLC, upravené a znázornené na *obrázku 55* má tvar veľmi podobný distribúciám meraných Virchowom [44] znázornených na *obrázku 54*.

## 6.1.2 Meranie inhalátora Fostair NEXThaler pomocou APS

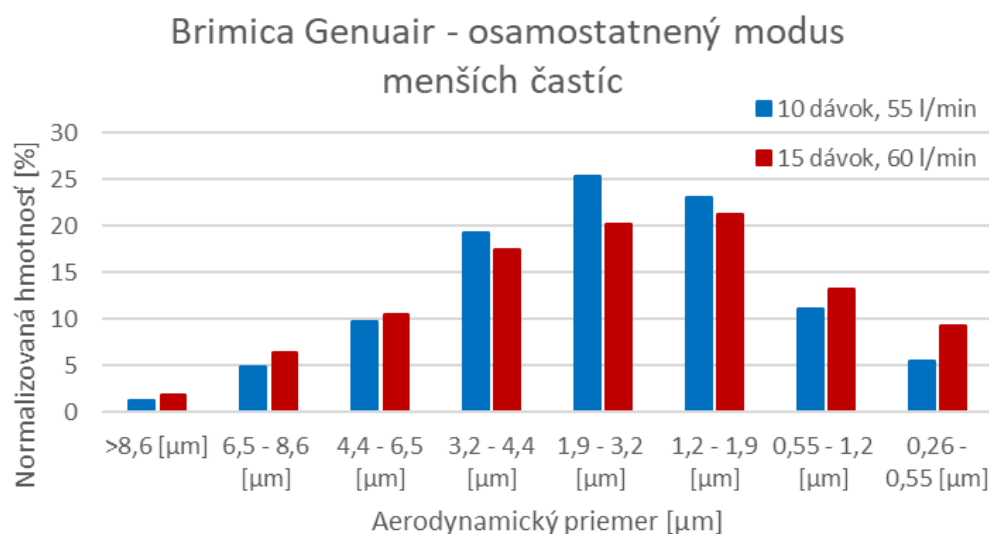
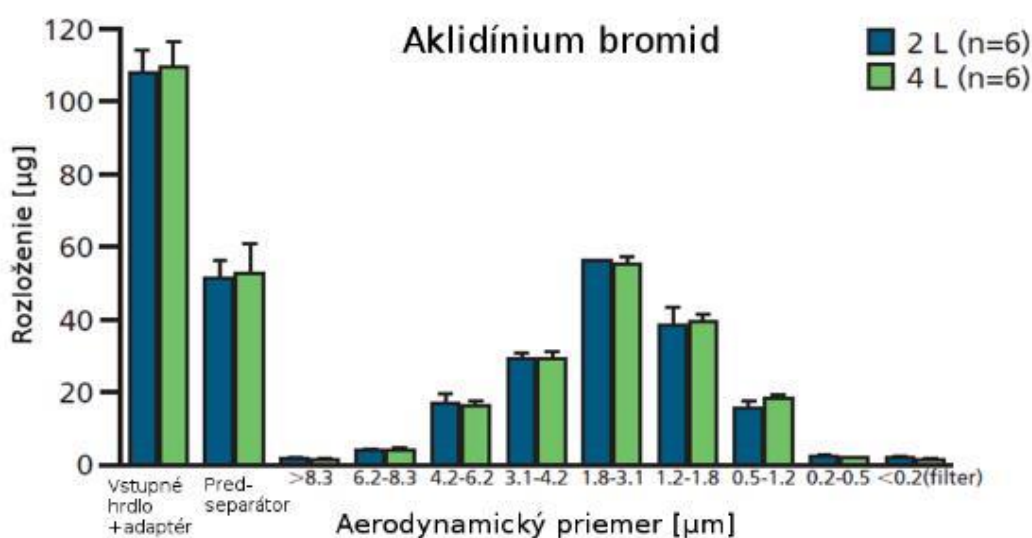
Meraním Fostair NEXThaleru na APS bola získaná bimodálna distribúcia (*Obrázok 31*). Podobne ako pri iných meraniach na APS, vplyvy dávkovania, podobne ako polohy umiestnenia nasávania v boxe boli citel'né. Ako už bolo spomenuté, meranie DPI podáva veľmi okresanú informáciu v prípade, že jeho súčasťou nie je chemická analýza, z dôvodu, že prášok je zložený z viacerých zložiek (u Fostairu BDP, FF, laktóza a magnézium stearát). V prípade analýzy pomocou APS, modus v oblasti menších častíc po osamostatnení, má  $MMAD = 1,33\text{ }\mu\text{m}$ , po preložení lognormálnou distribučnou funkciou  $MMAD_{\log n} = 1,42\text{ }\mu\text{m}$ . Nárast v oblasti väčších častíc má  $MMAD = 3,11\text{ }\mu\text{m}$  a po preložení lognormálnou distribúciou  $MMAD_{\log n} = 3,17\text{ }\mu\text{m}$ . Distribúcia bez rozkladania na dva módy má  $MMAD = 2,13\text{ }\mu\text{m}$ . Z takto rozložených údajov sa zdá, že nameraný modus malých častíc sa rozmerovo pomerne zhoduje s očakávanými rozmermi častíc účinných ingrediencií BDP a FF ( $MMAD = 1,4\text{—}1,5\text{ }\mu\text{m}$ ). Modus väčších častíc ťažko zhodnotiť bez informácie o jeho chemickom zložení, keďže môže predstavovať distribúciu častíc excipientov, no taktiež mohol vzniknúť nevhodným vzorkovaním, keďže pri veľmi frekventovanom dávkovaní hodnota  $MMAD$  stúpala. Rôzne zložky tohto prášku majú tiež rôzne hustoty, čo môže spôsobiť nepresné informácie o hmotnostnej distribúcii.

## 6.2 Meranie DPI inhalátora Brimica Genuair

### 6.2.1 Meranie zariadenia Brimica Genuair na ACI.

Porovnanie zariadenia Brimica Genuair s dostupnou literatúrou bolo o niečo náročnejšie, pretože bolo dosiaľ publikovaných iba zopár štúdií popisujúcich parametre tohto aerosólu, a takmer žiadne neuvádzajú údaje explicitne.

Výsledky z gravimetrickej analýzy sa dajú vnímať iba orientačne kvôli vysokej neistote. Avšak po upravení distribúcie odstránením vysokých frakcií na prvých stupňoch sa distribúcia do veľkej miery zhodovala s distribúciou publikovanou *Block et al.* (*horná časť obrázku 56*) v zdroji [45], kde bola stanovená distribúcia na ACI pri prietoku 65 l/min a teda boli veľkosti častíc merané na ACI prepočítané na hodnoty odpovedajúce pre dané prietoky. Taktiež boli v tejto práci porovnávané výsledky pre rôzne inhalačné objemy (2 l a 4 l). Hoci v spomínanej práci nie sú uvedené presné parametre distribúcie, nami namerané údaje pri ignorovaní nárastu frakcií na prvých stupňoch, pomerne pekne zodpovedajú tvaru distribúcie zo zdroja [45]. Pre porovnanie týchto distribúcií sú obe rozloženia vykreslené na *obrázku 56*.



Obrázok 56: Porovnanie gravimetricky stanovených údajov z ACI s údajmi zo zdroja [45].

Pri porovnaní gravimetricky určenej distribúcie meranej s prietokom 55 l/min na netesnom impaktore a 60 l/min pri utesnenom modeli bol rozdiel v upravenej distribúcii bez prvých stupňov malý. Signifikantnejšie však bolo zvýšenie frakcií deponovaných na prvých stupňoch v pomere k zmene usadených hmotností na nižších stupňoch.

### 6.2.2 Meranie inhalátora Brimica Genuair pomocou APS

Z meraní inhalátora Brimica Genuair pomocou APS vyšla tvarom veľmi pekná distribúcia, ktorej MMAD bol však približne o 1 µm väčší ako údaje namerané na impaktore (Obrázok 36). Medzi nameranými vzorkami však boli aj také, ktorých distribúcia mala podobne pekný tvar, no v hodnotách odpovedajúcich vyššie popísaným meraniam na impaktore (MMAD bol cca 2,4 µm pri koncentrácii < 3 mg/cm<sup>3</sup>). Pri týchto vzorkách bola celková koncentrácia častíc výrazne nižšia ako u iných vzoriek, ktorých MMAD bol podobný tomu, ktorý je uvedený v kapitole 5.2.2,

a teda MMAD cca 3,4  $\mu\text{m}$  (pri koncentrácii okolo 20  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ). Podobné správanie bolo viditeľné už u Fostair NEXThaleru, avšak v tom prípade bol medzi vzorkami s vyššou koncentráciou (frekventovanejšie dávkovanými) a vzorkami s nižšou koncentráciou rozdiel aj v tvare distribúcie – pri vyšších koncentráciách bola unimodálna, pri nižších sa objavili vrcholy dva. V prípade zariadenia Brimica Genuair, meranie nemohlo byť zopakované s nižšou frekvenciou dávkovania (tak ako to bolo v prípade NEXThaleru) z dôvodu nedostatku dávok liečiva.

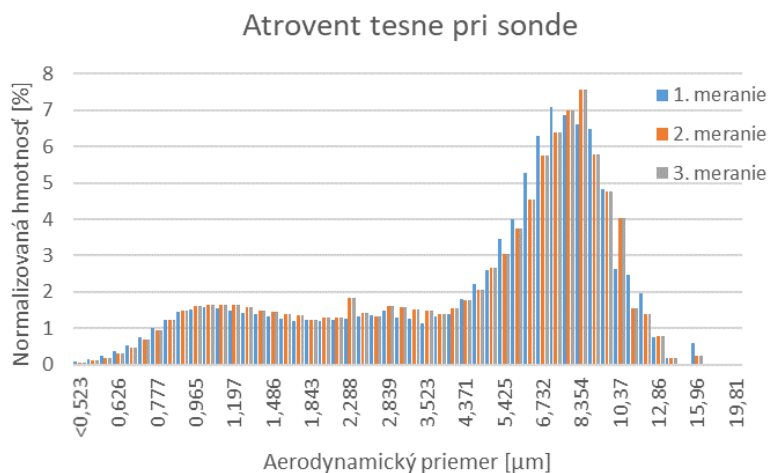
## 6.3 Merania zariadenia Atrovent

V prípade Atroventu je, na rozdiel od inhalátora Brimica, publikovaných dostatok meraní veľkostnej distribúcie. *Handoko Adi et al.* v zdroji [46] uvádza MMAD pre účinnú látku ipratropium bromid ako 0,9  $\mu\text{m}$  (merané na NGI). *Zhang et al.* dokonca stanovili vplyv rôznych faktorov na veľkostnú distribúciu, meraním na NGI a určili pri teplote 25 °C MMAD = 0,89  $\mu\text{m}$ , no pri teplote 5 °C až 3,39  $\mu\text{m}$  [47]. Pri prostej lineárnej interpolácii týchto údajov pri podmienkach našich meraní (cca 22 °C) mal byť MMAD približne 1,3  $\mu\text{m}$ .

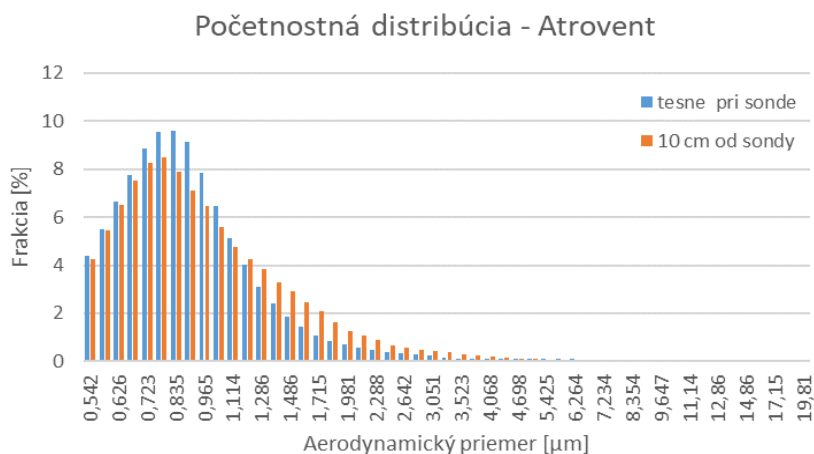
### 6.3.1 Meranie Atroventu na ACI

Pri meraní Atroventu pomocou ACI sa ukázala gravimetria ako veľmi nevhodná metóda pre analýzu. Dávka tohto zariadenia je veľmi malá (20  $\mu\text{g}$  liečiva) a kvôli vysokej rýchlosti emitovaného aerosólu sa väčšinová časť z nej usadí vo vstupnom hrdle impaktora. Túto frakciu, usadenú vo vstupnom komponente, by bolo možné určiť gravimetricky iba veľmi ťažko. Ako už bolo spomenuté, zreteľnejšie výsledky boli získané iba meraním pri použití 130 dávok na meranie. MMAD z tohto merania bolo stanovené na 1,75  $\mu\text{m}$ . Hoci podľa výsledkov z literatúry, popísaných vyššie, by mala byť hodnota o niečo nižšia, dá sa povedať, že sa orientačne zhoduje s očakávanými hodnotami. Podstatným prínosom však je, že meranie, na ktoré bolo spotrebovaných 130 dávok, a napriek tomu neistota prevyšovala navážené hodnoty, nie je perspektívne a bez spektrometrie by boli asi relevantné výsledky dosiahnuté iba ťažko.

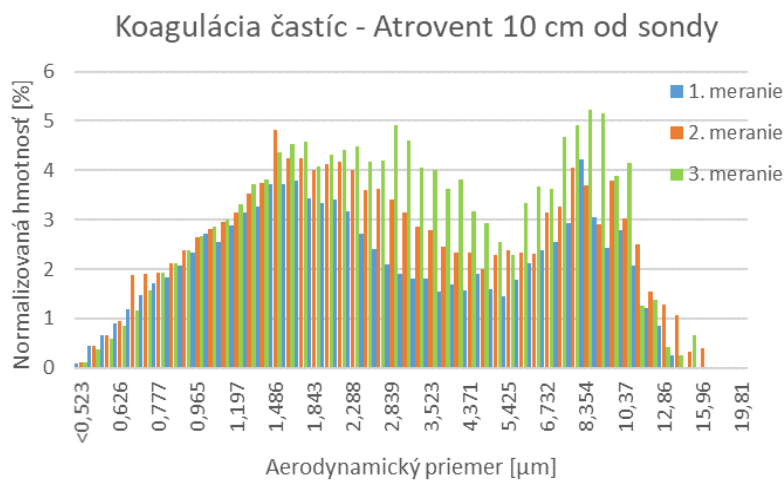




Obrázok 57: Veľkostná (hmotnostná) distribúcia stanovená na APS pri umiestnení tesne pri sonde.



Obrázok 58: Početnostná distribúcia aerosólu zo zariadenia Atrovent meraná pri rôznych umiestneniach zariadenia: tesne pred izokinetickou sondou a vo vzdialenosti 10 cm od nej.



Obrázok 59: Veľkostná (hmotnostná) distribúcia stanovená na APS pri umiestnení sondy vo vzdialenosti 10 cm od inhalátora pri troch meraniach nasledujúcich po sebe.

### 6.3.2 Meranie zariadenia Atrovent pomocou APS

Na podnet autorovej bakalárskej práce, kde bola vyslovená hypotéza, že variabilita medzi výsledkami môže byť spôsobená náchylnosťou zariadenia na nasmerovanie dýzy a citlivosť na pohyb, boli v rámci tejto práce vykonané dve merania, jedno pri umiestnení náustku v tesnej blízkosti od izokinetickej sondy, ktorou bol aerosól nasávaný do APS, a druhé s umiestnením náustku vo vzdialenosti 10 cm od tejto sondy. Výsledky tohto merania boli však mierne prekvapujúce. Podstatnejší, ako vplyv nasmerovania, sa javil vplyv zvýšenej koncentrácie v oblasti pred sondou (pri tesnom umiestnení sondy), pričom tieto rozdiely sa na početnostnej distribúcii výrazne neprejavili, respektíve prejavili sa iba na jej tvare (na *obrázku 58* sú zobrazené priemerné početnostné distribúcie pri oboch umiestneniach), no na hmotnostnú distribúciu mali, zdá sa, zásadný dopad. V prípade umiestnenia Atroventu 10 cm od sondy bola nameraná bimodálna distribúcia, pričom prvý vrchol bol približne pri rozmeroch  $1,5\ \mu\text{m}$  a druhý približne pri rozmeroch  $9\ \mu\text{m}$  (hmotnostná distribúcia meraná s náustkom v tesnej blízkosti pri sonde je znázornená na *obrázku 57*). Boli však vykonané tri merania v nadväznosti za sebou s odmlkou medzi meraním menšou ako 10 sekúnd a dávkovaním takmer nepretržitým aj počas odmlky. Z týchto meraní je na *obrázku 59* vidieť, ako sa v dôsledku zvýšenia koncentrácie častíc menia parametre distribúcie. Tento jav je pravdepodobne spôsobený koaguláciou častíc, ktorá sa zvyšovaním koncentrácie stáva významnejšou. V prípade merania v tesnej blízkosti bol podľa všetkého jav ešte výraznejší, pretože rozloženie malo iba jeden zreteľný vrchol, a to v okolí rozmeru  $9\ \mu\text{m}$ . V prípade tak zásadného vplyvu vysokej rýchlosti aerosólu na vzorky, aký bol očakávaný v záveroch bakalárskej práce, by bol efekt opačný. Pri tesnom umiestnení sondy by tak boli veľké častice zo spektra vylúčené v dôsledku zotrvačnej impakcie.

Tieto merania podali dôležitú informáciu, no na určenie parametrov veľkostnej distribúcie nemohli byť použité. Avšak stojí určite za zmienku, že *Mitchell et al.* [48] pri meraní pomocou time-of-flight zariadenia Aerosizer získal taktiež bimodálnu distribúciu s hlavným módom v rozmedzí medzi  $0,5$  a  $2,5\ \mu\text{m}$  a ďalším módom medzi  $5$  a  $7\ \mu\text{m}$ , čo pripomína distribúciu meraní vo vzdialenosti 10 cm od sondy.

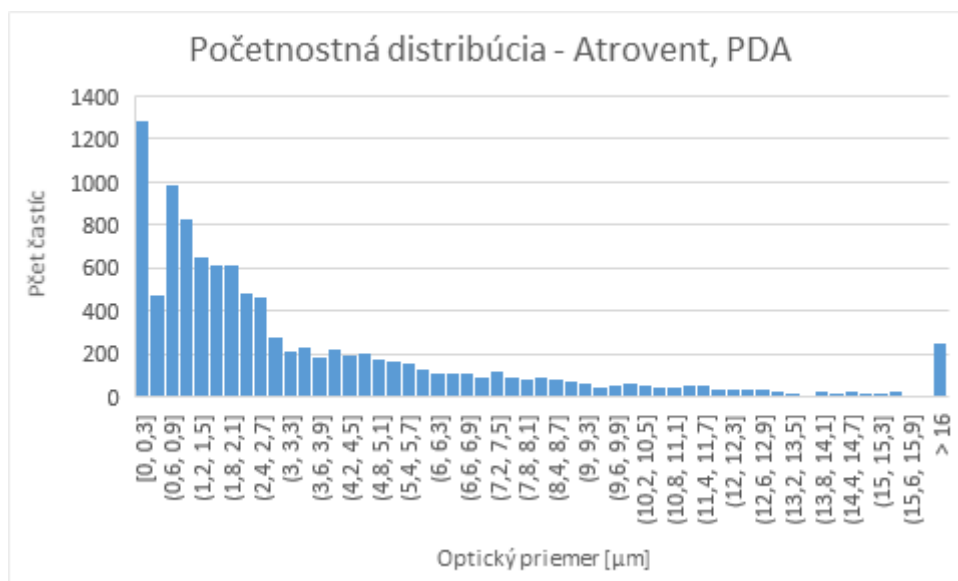
Na porovnanie veľkostných distribúcií boli vykonané merania s nižšou frekvenciou dávkovania. Hmotnostné distribúcie týchto súborov boli unimodálne s miernym nárastom v oblasti väčších častíc. Distribúcia bez tohto nárastu mala MMAD približne  $1,6\ \mu\text{m}$ . To je v pomerne dobrej zhode s vyššie zmienenými údajmi z literatúry.

### 6.3.3 Meranie Atroventu pomocou PDA

PDA metóda sa z použitých experimentálnych metód javila ako veľmi praktická, a to okrem vysokej presnosti hlavne z dôvodu, že výsledok je len ťažko ovplyvniteľný spôsobom dávkovania, veľkostné spektrum sa zdalo byť viac menej uniformné v priereze profilu prúdu a v poslednej rade je toto meranie časovo nenáročné.

Výsledky troch meraní sa medzi sebou veľmi dobre zhodovali, pričom priemer mediánov početnostných distribúcií bol  $2,5\ \mu\text{m}$ , pri preložení lognormálnou distribučnou funkciou  $2,77\ \mu\text{m}$ . Tieto hodnoty sú približne o  $1\ \mu\text{m}$  väčšie ako hodnoty namerané pomocou APS a hodnoty čerpané z literatúry. Pri pohľade na takto získanú početnostnú distribúciu uvedenú na *obrázku 60* je zreteľné, že v porovnaní s početnostnou distribúciou zmeranou na APS (*obrázok 58*) bolo pri meraní na PDA

detekované omnoho väčšie množstvo „enormne“ veľkých častíc, v rozmeroch skoro až po 30  $\mu\text{m}$ , ktoré spôsobili tak výrazný nárast mediánu. Toto je s najväčšou pravdepodobnosťou zapríčinené tým, že excipienty v náplni (R134a, etanol a kyselina citrónová [49]), ktoré napomáhajú disperzii častíc ipratropia, sa na vzdialenosti 8 cm nestihli odpariť. V prípade APS bola cesta aerosólu do meracej zóny výrazne dlhšia (cca 1 m), a teda bol odpar zaručený. Je nutné však podotknúť, že pri reálnom používaní inhalátora je dĺžka ústnej dutiny (vzdialenosť od kolmého zakrivenia dýchacích ciest) ešte menšia ako vzdialenosť inhalátora od meracej zóny pri meraní na PDA, a tak je informácia o distribúcii s nedokonale odparenými časticami hodnotná. Na dokonalejšiu analýzu by však mala byť doplnená o informáciu o chemickom zložení. V tomto smere by tiež bola veľmi užitočná informácia z PDA meraní s rôznymi vzdialenosťami inhalátora od meracej zóny, čím by bol odpar excipientov zaznamenaný. Podobné skutočnosti uvádza *Xiaofei et al.* [50], ktorý popisuje meranie 9 MDI pomocou PDA, pričom boli merané veľkostné spektrá častíc vo vzdialenosti 3 a 6 mm. Pri tomto meraní rozmery častíc údajne klesali so vzdialenosťou, čo bolo prísúdené odparovaniu zložiek náplne.



Obrázok 60: Početnostná distribúcia častíc zariadenia Atrovent určená pomocou PDA

### 6.3.4 Meranie zariadenia Atrovent pomocou LDA

Meranie rýchlostí pomocou LDA prinieslo informáciu o rýchlostnom profile aerosólu zariadenia Atrovent. Vo vzdialenosti 8 cm od dýzy sa rýchlosti pohybovali okolo 5 m/s, čo je u MDI zariadení očakávané a bežné. Profil bol približne symetrický a v porovnaní s profilom Respimatu SMI sa zdal byť o niečo ostrejší, a zároveň širší, čo je spôsobené niekoľkonásobne vyššími rýchlosťami.

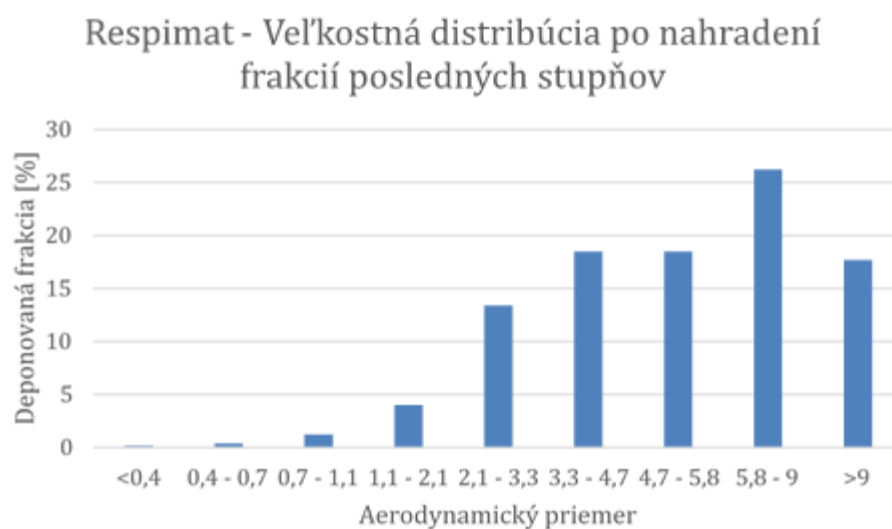
## 6.4 Respimat SMI

V stanovení hodnôt veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Respimat SMI sa literatúra mierne rozchádza, navyše explicitne vyjadrené parametre distribúcie sú raritou. Rozkol medzi údajmi [51–54] môže byť spôsobený rôznymi javmi, no v prípade tejto práce, ako aj autorovej bakalárskej práce, sa vplyv rôznych náplní (Spioto, Placebo a roztok fluoresceínu) javil ako zanedbateľný. *Mehri et al.* vo svojej práci [53] porovnával veľkostnú distribúciu častíc meraní na Andersenovom kaskádovom impaktore

(analyzovanú spektrometricky) pri rôznych stavoch vlhkosti ( $RH = 90\%$  a  $RH = 40 - 50\%$ ) a rozdiel v tvaroch distribúcie bol markantný. Pri všetkých meraniach zariadenia Respimat SMI bola relatívna vlhkosť vzduchu v miestnosti pomerne nízka, a to približne  $30\%$ , pri meraniach pomocou PDA v rozmedzí  $15 - 20\%$ . Zariadenie by malo byť údajne vyvinuté tak, že podáva frakciu častíc menších ako  $5,8\ \mu\text{m}$  v rozmedzí  $65 - 80\%$  [55].

#### 6.4.1 Meranie zariadenia Respimat SMI pomocou ACI

Na rozdiel od predchádzajúcich meraní na ACI, v prípade zariadenia Respimat SMI bola použitá metóda označenia roztoku fluoresceinom. Na nameraných distribúciách je vidieť veľmi výrazný nárast deponovaných frakcií v oblasti posledných troch stupňov impaktora a na, za nimi umiestnenom filtri. Tvar distribúcie je medzi meraniami skoro zhodný, preto sa z hľadiska opakovateľnosti metóda merania s využitím fluorescencie zdá byť veľmi presná. V porovnaní s dostupnou literatúrou ([51–54]) však v našom prípade vyšli hodnoty mediánu veľkostnej distribúcie výrazne nižšie (MMAD približne  $1\ \mu\text{m}$ ). Pri pohľade na veľkostné spektrá namerané na ACI a NGI v zdrojoch [53, 56] je vidieť, že distribúcia pri  $RH\ 50\%$  má jeden modus v oblasti približne štvrtého stupňa a ďalší modus v oblasti posledného stupňa a filtra. Podobné výsledky pri  $RH = 50\%$  a prietoku  $30\ \text{l/min}$  získal pomocou NGI aj *Wachtel et al.* [56]. *Mehri et al.* [53] dokonca uvádza, že pri tomto meraní na ACI bola maximálna deponovaná frakcia na poslednom stupni. Pri analýze však do distribúcie započítal aj hodnotu frakcie na vstupnom hrdle, a to akoby predstavovala frakciu deponovanú na stupni s „cut-off“ priemerom  $10\ \mu\text{m}$ . Táto úprava pravdepodobne posunula publikované MMAD k vyšším hodnotám, ktoré sa pohybujú okolo  $5\ \mu\text{m}$ . Pri ďalšom meraní v tej istej práci bola cielene udržiavaná vlhkosť vzduchu  $RH = 90\%$ . Na výsledkoch tohto merania je vidieť, že modus v oblasti štvrtého stupňa impaktora vzrástol a modus v oblasti posledných stupňov takmer zmizol v dôsledku zvýšenej vlhkosti vzduchu. Podobné výsledky, s výraznou frakciou malých častíc uvádza taktiež *Pitcairn et al.* [52]. Avšak, keďže v reálnom prípade použitia inhalátora je vlhkosť vzduchu v dýchacích cestách približne  $90\%$ , do budúcnosti, snaha o zaistenie takýchto podmienok v priebehu merania



Obrázok 61: Veľkostná distribúcia zariadenia Respimat SMI stanovená pomocou ACI po nahradení hodnôt posledných stupňov impaktora.

je zjavne účelná.

Bohužiaľ, nameraná veľkostná distribúcia sa výrazne odlišovala od ostatných distribúcií zariadenia RespiMat nameraných v tejto práci, kde v prípade APS bol MMAD podľa spôsobu dávkovania buď približne 5  $\mu\text{m}$  alebo 8  $\mu\text{m}$  a v prípade PDA bol volumetrický medián približne 7  $\mu\text{m}$ , a ako už bolo spomenuté, líšila sa tiež od viacerých literárnych zdrojov. Jednou možnosťou dôvodu získania takto nízkych rozmerov môže byť spomínaná vlhkosť vzduchu a vyššia miera odparovania z povrchu častíc pri prietoku cca 30 l/min v porovnaní s odparovaním pri prietoku 5 l/min (APS), či rozprášení roztoku do statického prostredia (PDA). Druhým variantom vysvetlenia, prečo boli získané tak malé rozmery je možnosť, že pri vysokej koncentrácii fluoresceínu v roztoku (3 mg/ml) sa fluoresceín nedokázal dokonale rozpustiť a zostal v náplni vo forme častíc veľkosti cca 1  $\mu\text{m}$ , ktoré sa usadili práve na posledných stupňoch a rozpustili sa až pri vyplachovaní segmentov impaktora, čo spôsobilo výrazne vyššie frakcie namerané na týchto stupňoch. Pri nahradení týchto stupňov impaktora, podobným spôsobom ako boli nahradené frakcie prvých stupňov v prípade DPI sa výsledné hodnoty MMAD pohybujú okolo 5  $\mu\text{m}$  (obrázok 61). Navyše častice pohybujúce sa v rozmeroch väčších ako 9  $\mu\text{m}$  nie sú na impaktore zmerané (sú odlúčené vo vstupnom hrdle), a tak sa do distribúcie nepočítajú.

Napriek neúplnej zhode s nameranými veľkostnými spektrami v literatúre, FPF určená ako percento častíc menších ako 5,8  $\mu\text{m}$  z celkovej deponovanej hmotnosti sa pohybovala medzi hodnotami 64,9 — 81,9 %, čo veľmi dobre odpovedá udávanej FPF [55].

#### 6.4.2 Meranie zariadenia RespiMat SMI pomocou APS

V prípade merania zariadenia RespiMat pomocou APS boli zistené viaceré komplikácie týkajúce sa vzorkovania. Ako už bolo spomenuté v kapitole výsledkov, pri meraniach zariadení Atrovent a RespiMat bolo zistené, že „kontinuálne“ dávkovanie, ktoré bolo v bakalárskej práci vytyčené ako vhodná cesta (pri určovaní početnostných distribúcií), posúva distribúciu k vysokým hodnotám s MMAD okolo 8  $\mu\text{m}$ . Takýmto dávkovaním bol zmeraný RespiMat s náplňou liečiva Spiolto a s roztokom fluoresceínu. Obe náplne pri tomto spôsobe dávkovania vykazovali takmer zhodné veľkostné distribúcie, preto bol RespiMat s roztokom fluoresceínu považovaný za validovaný na meranie veľkostnej distribúcie na ACI a na meranie depozície častíc v modely horných dýchacích ciest.

Podľa skutočností popísaných v stati 7.4.1 je veľkosť spektra veľmi závislá na vlhkosti vzduchu. Ďalším javom ovplyvňujúcim veľkostné spektrum je koagulácia častíc, ktorá je priamo zapríčinená zvýšením koncentrácie častíc vo vzduchu v dôsledku kontinuálneho dávkovania, čo mohlo byť dôvodom nameraných hodnôt.

Po takejto skúsenosti bol RespiMat dávkovaný s o niečo nižšou frekvenciou (1 dávka cca za 4 sekundy), z čoho bola získaná distribúcia s MMAD približne 5  $\mu\text{m}$ . Hoci, ako bolo už zmienené, údaje dostupné v literatúre sú rôzne, zo zdrojov [51, 54, 57] sa zdá, že MMAD tohto zariadenia pri meraniach na impaktoroch spadá vo všeobecnosti medzi do rozmedzia 3 — 4  $\mu\text{m}$ . V prípade meraní v tejto práci bol aj pri zníženej frekvencii dávkovania na nameranej distribúcii viditeľný vypuklý tvar na strane vyšších rozmerov, pravdepodobne spôsobený spomínaným efektom koagulácie. V prípade, že by bol tvar rozloženia symetrický (teda aj strana vyšších rozmerov by mala konvexný charakter), bol by určený medián ešte nižší.

Z takýchto skúseností z meraní vyplýva, že pri meraniach na APS je správne vzorkovanie veľmi problematické. Pri príliš malej frekvencii dávkovania sa distribúcia posunie k príliš malým hodnotám, až sa zdá, akoby APS nasávalo čistý vzduch [8], pri vysokej frekvencii dávkovania sa zase spektrum posúva do vyšších rozmerov z už vyššie objasnených dôvodov. Na vyladenie vzorkovania by bolo nutné spotrebovať veľké množstvo dávok, a taktiež zostrojiť zariadenie, ktoré by dávkovalo automaticky v presne zvolených časových intervaloch. Na zistenie správneho spôsobu vzorkovania je teda nutné získať presnú hodnotu veľkostnej distribúcie z inej meracej metódy.

FPF určená ako percento častíc menších ako  $5,8\text{ }\mu\text{m}$  bola pri menej frekventovanom dávkovaní 62 %, pri dávkovaní častom bola pre Spiolto cca 21 %, pre náplň s fluoresceínom 28 %. Ani jeden z týchto výsledkov nespadá do požadovaného intervalu [55].

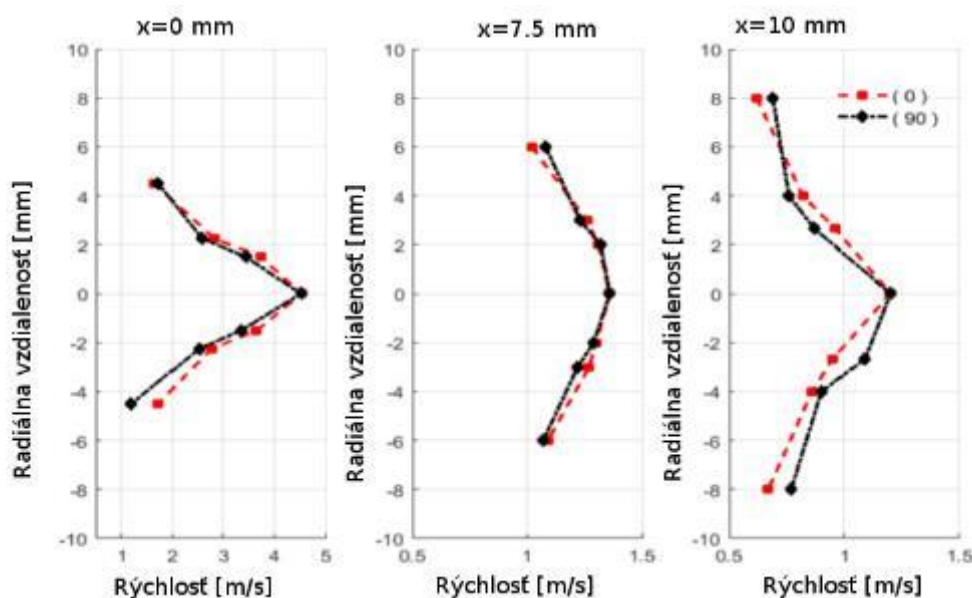
### 6.4.3 Meranie inhalátora Respimat SMI pomocou PDA

Pomocou PDA systému bolo stanovené tiež veľkostné spektrum častíc emitovaných zariadením Respimat SMI. Týmto spôsobom boli overené vlastnosti aerosólu pri použití náplne s roztokom fluoresceínu, a doplnili tak validáciu jeho použitia na merania pomocou ACI a s využitím mechanického modelu horných dýchacích ciest. Namerané hodnoty početnostného mediánu optických priemerov pri umiestnení inhalátora vo vzdialenosti približne 8 cm od meracieho objemu boli približne  $2,5\text{ }\mu\text{m}$  s výkyvom okolo  $0,1\text{ }\mu\text{m}$ .

Detailné merania zariadenia Respimat Spiriva vykonal v rámci dizertačnej práce *Abubaker Alatrash* (Ottawa-Carleton Institute for Mechanical and Aerospace Engineering Department of Mechanical Engineering Carleton University, Ottawa, Ontario, Kanada) [58]. Priniesol tak podrobný rozbor priestorového aj časového priebehu emitovania aerosólu z tohto zariadenia a popísal viacero zaujímavých javov ako je napríklad značný nárast rozmerov častíc emitovaných v posledných 300 milisekundách atomizácie. Ako parametre distribúcie vo vzdialenosti 7,5 cm od dýzy sú uvedené rozmery  $D_{10}$  – jednoduchý priemer početnostnej distribúcie,  $D_{30}$  – stredná hodnota objemov častíc, a  $D_{v50}$  – medián objemov častíc. Pre zariadenie Respimat Spiriva uvádza hodnoty  $D_{10}=3,32\text{ }\mu\text{m}$ ;  $D_{30}=5,8\text{ }\mu\text{m}$  a  $D_{v50}=2,59$  [58]. Skutočnosť, že medián objemov je najmenší z parametrov je pri najmenšom zvláštna. V prípade meraní zariadenia Respimat v tejto práci boli parametre  $D_{10}$  a  $D_{30}$  pomerne podobné parametrom publikovaným v zmienenej práci (približne  $D_{10}=3,1\text{ }\mu\text{m}$  a  $D_{30}=4,4\text{ }\mu\text{m}$ ), avšak hodnota mediánu objemov nami nameraných distribúcií mala hodnoty okolo  $7\text{ }\mu\text{m}$ .

Takéto hodnoty (početnostný medián  $2,5\text{ }\mu\text{m}$  a objemový medián  $7\text{ }\mu\text{m}$ ) pripomínajú hodnoty z merania na APS pri kontinuálnom dávkovaní, kde bol CMAD medzi 3 a  $4\text{ }\mu\text{m}$  a MMAD približne  $8\text{ }\mu\text{m}$ .





Obrázok 62: Rýchlostný profil prúdu aerosólu zariadenia Respimat Spiriva podľa práce zo zdroja [58]

#### 6.4.4 Meranie rýchlostného profilu inhalátora Respimat SMI pomocou systému LDA

V práci uvedenej vyššie [58] boli merané rýchlostné profily zariadenia Respimat s náplňou Spiriva v rôznych vzdialenostiach od dýzy. Tu sa hodnoty namerané v tejto práci líšia od publikovaných, znázornených na *obrázku 62*. V krajných bodoch nameraného profilu v tejto diplomovej práci (*obrázok 47*), to znamená 25 mm od stredu, bola rýchlosť častíc iba nepatrná, a to približne 0,2 m/s, zatiaľ čo v práci publikovanej Alatrashom [58] boli hodnoty v takejto vzdialenosti od stredu okolo 1 m/s, a to vo vzdialenosti 10 cm od dýzy. Preto by bolo vhodné merania opakovať, no nakoľko metóda LDA je veľmi presnou experimentálnou metódou, bolo by dobré rýchlostný profil stanoviť pre viac zariadení rovnakého typu, a vylúčiť tak atypickosť meraného zariadenia.

Vo všeobecnosti boli namerané rýchlosti zariadenia Respimat veľmi malé, čo je práve cieľom tejto technológie.

#### 6.4.5 Meranie depozície častíc zariadenia Respimat SMI v modeli horných dýchacích ciest pomocou fluorescencie

Cieľom merania bolo stanoviť frakciu aerosólu, ktorá pri prietoku 30 l/min, prenikne za horné dýchacie cesty a dostane sa tak do oblastí, kde môže byť účinná. Výsledky týchto meraní boli pomerne variabilné, no vo všeobecnosti sa pohybovali v rozmedzí približne 56 — 73 %, s priemerom 64,7 %. *Pitcairn et al.*[52] uvádza pri meraniach *in vivo* percentuálnu časť aerosólu, ktorá sa dostala do pľúc v rozmedzí 47 — 57 %. Popisuje však značne veľký podiel častíc, ktoré boli vydýchnuté, a to 9 — 11 %. V meraniach depozície častíc na modeli horných dýchacích ciest v tejto práci výdych simulovaný nebol, častice boli dávkované pri kontinuálnom nasávaní. Z toho sa dá predpokladať, že



frakcia častíc, ktoré by za normálnych okolností boli exhalované sa započítala do nameranej frakcie, ktorá sa dostala za model horných dýchacích ciest. Pri takomto predpoklade sú namerané hodnoty v dobrom súlade s hodnotami uvedenými *Pitcairnom et al.* z *in vivo* meraní.

## 7 Záver

Z experimentov, diskutovaných vyššie, jednoznačne vyplýva, že výsledky meraní terapeutických aerosólov môžu byť ovplyvnené množstvom faktorov, od správneho spôsobu dávkovania, po vhodné prostredie. Prekonať tieto úskalia s obmedzeným počtom dávok liečiva a mnohokrát s neodskúšanou metodikou sa v rámci diplomovej práce ukázalo ako pomerne náročné.

Jedným z hlavných poznatkov z meraní na kaskádovom impaktore bola obtiažnosť gravimetrickej analýzy, pričom v prípade DPI sa ukázala bez použitia vrstvy surfaktantu na plátkoch, aj pri raz takom navýšení dávok ako predpisuje liekopis, ako takmer nepoužiteľná, pretože neistoty váh vo väčšine prípadov prevyšovali navážené hodnoty. U MDI, kde je hmotnosť jednej dávky veľmi nízka a jej značná časť sa kvôli veľkej rýchlosti emitovaného aerosólu usadí v kolene vstupného komponentu impaktora, sa gravimetria javí ako veľmi nevhodná, pretože by na relevantné meranie vyžadovala enormné množstvo použitých dávok. Naopak využitie HPLC analýzy sa ukázalo byť vhodnou metódou, a výsledky sa pomerne dobre zhodovali s publikovanými údajmi. Do budúcich meraní je však nutné aj pri gravimetrickej, aj pri chemickej analýze, aplikovať vrstvu surfaktantu minimálne na vstupné komponenty uložené pred prvý stupeň impaktora, aby odseparovali nerozložené aglomeráty, ktoré nesú veľký podiel hmotnosti.

Meranie pomocou APS sa ukázalo ako využiteľná metóda pre meranie terapeutických aerosólov, no s veľkou citlivosťou na spôsob vzorkovania. V prípade MDI sa ukázalo, že umiestnenie MDI voči izokinetickej sonde má vplyv na výsledky merania, no opačný ako bol predpokladaný v autorovej bakalárskej práci [8]. Ak by boli namerané vzorky ovplyvnené najmä zotrvačnou impakciou častíc (ktorá je výrazná kvôli vysokej rýchlosti aerosólu), ako to bakalárska práca [8] predpokladá, po priblížení náustku impaktora k sonde by boli zo spektra eliminované tie najväčšie častice. Naopak, meraní pri rôznom umiestnení inhalátora však vyplynulo, že frakcie častíc väčších rozmerov po priblížení náustku k sonde narastajú, čo sa javí ako dôsledok vysokej miery koagulácie častíc po zvýšení ich koncentrácie v priestore medzi náustkom a izokinetickou sondou.

Pri znížení frekvencie vzorkovania na APS sa veľkostné spektrum Atroventu dostalo do rozmerov zhodujúcich sa s informáciami z dostupnej literatúry. Naopak pri jeho meraní pomocou PDA malo získané spektrum veľmi výrazný podiel častíc nevdychnuteľných rozmerov. Táto informácia je však veľmi užitočná, pretože je pravdepodobné, že pri väčšine experimentálnych metód, sa do meracej zóny dostanú častice s takmer úplne odparenými excipientami, čo však nepodáva informáciu o parametroch s akými aerosól prechádza hornými dýchacími cestami. Vhodné by teda bolo využiť výhody PDA systému a stanoviť priebeh priestorových zmien veľkostnej distribúcie aerosólu v závislosti od vzdialenosti od dýzy inhalátora. Žiaľbohu, takéto meranie v tejto práci nebolo možné uskutočniť z dôvodu obmedzeného množstva dávok.

Pri meraniach zariadenia Respimat SMI, ktoré v tejto práci predstavujú najrozsiahlejšiu časť, boli výsledky pomerne rôznorodé aj medzi sebou, aj v porovnaní s literatúrou. Pri meraniach na APS, pri nepretržitom dávkovaní (použitom na základe záverov z určovania početnostnej distribúcie v autorovej bakalárskej práci [8]) bol získaný MMAD cca 8  $\mu\text{m}$  a z objemovej veľkostnej distribúcie z merania na PDA –  $D_{v50}$  cca 7  $\mu\text{m}$ . Takéto distribúcie predstavujú veľmi nízku FPF (20 — 30 %), čo

protirečí požadovaným hodnotám. Z merania na impaktore však vyšiel MMAD približne 1  $\mu\text{m}$ . Ani jeden z týchto výsledkov však nenašiel dobrú zhodu v dostupnej literatúre. Pri menej frekventovanom dávkovaní bol následne na APS stanovený menší rozmer MMAD, ktorý približne odpovedal údajom z uvedených zdrojov. Relevantné veľkostné spektrum, validované viacerými metódami sa však v tomto prípade určiť nepodarilo, dokonca ani pomocou veľmi presnej PDA metódy. Napriek tomu frakcia, ktorá je schopná penetrovať do pľúc pomerne odpovedala hodnotám z *in vivo* meraní [52]. Pri určovaní veľkostného spektra tohto zariadenia je v literatúre zhoda malá a zdroje tak nepredstavujú výraznú oporu pre meranie. Avšak merania na ACI s využitím fluoresceínu vykazovali dobrú opakovateľnosť, a preto sa táto metodika zdá byť na meranie vhodná. Pri ďalších experimentoch je však vhodné overiť dôkladnosť rozpustenia fluoresceínu v použitom roztoku, meraniami pri nižších koncentráciách, a takéto meranie doplniť priestorovou analýzou veľkostného spektra aerosólu pomocou PDA pri rôznych, presne monitorovaných hodnotách vlhkosti.

## 8 Bibliografia

- [1] WHO, World Health ORGANIZATION and UNAIDS. *Global Surveillance, Prevention and Control of Chronic Respiratory Diseases: A Comprehensive Approach*. B.m.: World Health Organization, 2007.
- [2] WEINBERGER, Steven E., Barbara A. COCKRILL and Jess. MANDEL. *Principles of pulmonary medicine*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2014.
- [3] KOBLÍŽEK, Vladimír. *Doporučený postup ČPFS pro diagnostiku a léčbu Chronické Obstrukční Plicní Nemoci*. 2013.
- [4] PALEČEK, František. *Patofyziologie dýchání*. 2nd ed. 1999.
- [5] VAŠÁKOVÁ, Martina. *Moderní farmakoterapie v pneumologii*. 2016.
- [6] KACMAREK, Robert M., James K. STOLLER, Albert J. HEUER and Donald F. EGAN. *Egan's fundamentals of respiratory care*. 10th ed. St. Louis, Mo: Elsevier/Mosby, 2013.
- [7] WORLD HEALTH ORGANISATION. Burden of COPD. *World Health Organisation* [online]. [accessed. 15. February 2019]. Retrieved z: <https://www.who.int/respiratory/copd/burden/en/>
- [8] MIŠÍK, Ondřej. *Inhalátory a nebulizátory pro použití v medicíne*. B.m., 2017. b.n.
- [9] GANONG, William F. 13. Autonomní nervový systém. In: *Přehled lékařské fyziologie*. B.m.: Galén, 2005, p. 231 – 134.
- [10] BARNES, Peter J. Distribution of receptor targets in the lung. *Proceedings of the American Thoracic Society* [online]. 2004, vol. 1, no. 4, pp. 345–351. Retrieved z: doi:10.1513/pats.200409-045MS
- [11] ALAGHA, Khuder, Alain PALOT, Tunde SOFALVI, Laurie PAHUS, Marion GOUTA, Celine TUMMINO, Stephanie MARTINEZ, Denis CHARPIN, Arnaud BOURDIN and Pascal CHANEZ. Long-acting muscarinic receptor antagonists for the treatment of chronic airway diseases. *Therapeutic advances in chronic disease* [online]. 2014, vol. 5, no. 2, pp. 85–98. Retrieved z: doi:10.1177/2040622313518227
- [12] HINDS, William C. *Aerosol technology: Properties, behavior, and measurement of airborne particles*. 2nd ed. New York: Wiley, 1999.
- [13] DARQUENNE, Chantal. Aerosol deposition in health and disease. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery* [online]. 2012, vol. 25, no. 3, pp. 140–147. Retrieved z: doi:10.1089/jamp.2011.0916
- [14] CHENG, Yung Sung. Mechanisms of pharmaceutical aerosol deposition in the respiratory tract. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2014, vol. 15, no. 3, pp. 630–640. Retrieved z: doi:10.1208/s12249-014-0092-0
- [15] ZANEN, P, L T GO and J W LAMMERS. Optimal particle size for beta 2 agonist and anticholinergic aerosols in patients with severe airflow obstruction. *Thorax*. 1996, vol. 51, no. 10, pp. 977–980.

- [16] USMANI, Omar S, Martyn F BIDDISCOMBE and Peter J BARNES. Regional lung deposition and bronchodilator response as a function of beta2-agonist particle size. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. 2005, vol. 172, no. 12, pp. 1497–1504. Retrieved z: doi:10.1164/rccm.200410-1414OC
- [17] STEIN, Stephen W, Poonam SHETH, P David HODSON and Paul B MYRDAL. Advances in metered dose inhaler technology: hardware development. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2014, vol. 15, no. 2, pp. 326–338. Retrieved z: doi:10.1208/s12249-013-0062-y
- [18] FINLAY, Warren H. *The ' ' mechanics of inhaled pharmaceutical aerosols: An introduction*. San Diego: Academic Press, 2001.
- [19] HOCHRAINER, Dieter, Hubert HÖLZ, Christoph KREHER, Luigi SCAFFIDI, Michael SPALLEK and Herbert WACHTEL. Comparison of the Aerosol Velocity and Spray Duration of Respimat® Soft Mist™ Inhaler and Pressurized Metered Dose Inhalers. *Journal of Aerosol Medicine* [online]. 2005, vol. 18, no. 3, pp. 273–282. Retrieved z: doi:10.1089/jam.2005.18.273
- [20] IBRAHIM, Mariam, Rahul VERMA and Lucila GARCIA-CONTRERAS. Inhalation drug delivery devices: technology update. *Medical devices (Auckland, N.Z.)* [online]. 2015, vol. 8, pp. 131–139. Retrieved z: doi:10.2147/MDER.S48888
- [21] DEMOLY, Pascal, Paul HAGEDOORN, Anne H DE BOER and Henderik W FRIJLINK. The clinical relevance of dry powder inhaler performance for drug delivery. *Respiratory Medicine* [online]. 2014, vol. 108, no. 8, pp. 1195–1203. Retrieved z: doi:10.1016/j.rmed.2014.05.009
- [22] DE BOER, A H, P HAGEDOORN, M HOPPENTOCHT, F BUTTINI, F GRASMEIJER and H W FRIJLINK. Dry powder inhalation: past, present and future. *Expert Opinion on Drug Delivery* [online]. 2017, vol. 14, no. 4, pp. 499–512. Retrieved z: doi:10.1080/17425247.2016.1224846
- [23] CHRYSTYN, H and C NIEDERLAENDER. The Genuair® inhaler: a novel, multidose dry powder inhaler. *International Journal of Clinical Practice* [online]. 2012, vol. 66, no. 3, pp. 309–317. Retrieved z: doi:10.1111/j.1742-1241.2011.02832.x
- [24] BERKENFELD, Kai, Alf LAMPRECHT and Jason T MCCONVILLE. Devices for dry powder drug delivery to the lung. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2015, vol. 16, no. 3, pp. 479–490. Retrieved z: doi:10.1208/s12249-015-0317-x
- [25] NERBRINK, Ola. Nebulizers: Past to present platforms and future possibilities. *Inhalation*. 2016, vol. 10.
- [26] SANCHIS, Joaquin, Ignasi GICH, Soren PEDERSEN and AEROSOL DRUG MANAGEMENT IMPROVEMENT TEAM (ADMIT). Systematic review of errors in inhaler use: has patient technique improved over time? *Chest* [online]. 2016, vol. 150, no. 2, pp. 394–406. Retrieved z: doi:10.1016/j.chest.2016.03.041
- [27] FINK, James B and Bruce K RUBIN. Problems with inhaler use: a call for improved clinician and patient education. *Respiratory Care*. 2005, vol. 50, no. 10, pp. 1360–74; discussion 1374.

- [28] CHHABRA, S K. A Comparison of “Closed” and “Open” Mouth Techniques of Inhalation of a Salbutamol Metered-Dose Inhaler. *Journal of Asthma* [online]. 1994, vol. 31, no. 2, pp. 123–125. Retrieved z: doi:10.3109/02770909409044815
- [29] HAIDL, Peter, Stefan HEINDL, Karsten SIEMON, Maria BERNACKA and Rolf Michael CLOES. Inhalation device requirements for patients’ inhalation maneuvers. *Respiratory Medicine* [online]. 2016, vol. 118, pp. 65–75. Retrieved z: doi:10.1016/j.rmed.2016.07.013
- [30] VON HOLLEN, Dirk, Lois SLATOR, Ross H.M. HATLEY and Kurt NIKARDEN. Impact of flow rate on NGI throat deposition from 3 HFA inhaler formulations with anti-static valved holding chambers. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. 2013, vol. 26, no. 2.
- [31] BARON, Paul A. and Klaus WILLEKE. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications*. REV. B.m.: Wiley, John & Sons, Incorporated, 2005.
- [32] MARPLE, Virgil A, Daryl L ROBERTS, Francisco J ROMAY, Nicholas C MILLER, Keith G TRUMAN, Michiel VAN OORT, Bo OLSSON, Michael J HOLROYD, Jolyon P MITCHELL and Dieter HOCHRAINER. Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part I: Design. *Journal of aerosol medicine: the official journal of the International Society for Aerosols in Medicine* [online]. 2003, vol. 16, no. 3, pp. 283–299. Retrieved z: doi:10.1089/089426803769017659
- [33] COPLEY, Mark. Cascade Impaction and its Role in Inhaled Product Development. *Pharmaceutical Formulation and Quality*. 2012.
- [34] PHARMACOPOEIA, European. *European Pharmacopoeia 2015: Supplement 8.3 W/ 8.4 And 8.5*. 8th ed. B.m.: Worldwide Book Service, 2014.
- [35] COPLEY SCIENTIFIC. Inhaler testing brochure 2019. 2019.
- [36] DUNBAR, Craig, Abdo KATAYA and Tiba TIANGBE. Reducing bounce effects in the Andersen cascade impactor. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2005, vol. 301, no. 1-2, pp. 25–32. Retrieved z: doi:10.1016/j.ijpharm.2005.04.039
- [37] YOSHIDA, Hiroyuki, Akemi KUWANA, Hiroko SHIBATA, Ken-Ichi IZUTSU and Yukihiro GODA. Comparison of aerodynamic particle size distribution between a next generation impactor and a cascade impactor at a range of flow rates. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2017, vol. 18, no. 3, pp. 646–653. Retrieved z: doi:10.1208/s12249-016-0544-9
- [38] COLOMBO, Paolo, Daniela TRAINI and Francesca BUTTINI. *Inhalation Drug Delivery: Techniques and Products*. 1st ed. Chichester, West Sussex: Wiley, John & Sons, Incorporated, 2013.
- [39] BISGAARD, Hans, Chris O’CALLAGHAN and Gerald SMALDONE. *Drug Delivery to the Lung, Vol. 162*. B.m.: Informa Healthcare, 2002.
- [40] GRADON, Leon and Jan MARIJNISSEN, eds. *Optimization of aerosol drug delivery* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2003. Retrieved z: doi:10.1007/978-94-017-0267-6



- [41] MUSELIK, Jan. *Závěrečná zpráva z hodnocení obsahu BEKLOMETHASONU DIPROPIONÁTU v methanolických roztocích*. B.m.: Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 2019.
- [42] LIZAL, Frantisek, Jakub ELCNER, Philip K HOPKE, Jan JEDELSKY and Miroslav JICHA. Development of a realistic human airway model. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of Engineering in Medicine* [online]. 2012, vol. 226, no. 3, pp. 197–207. Retrieved z: doi:10.1177/09544119111430188
- [43] JETZER, M W, B D MORRICAL, M SCHNEIDER, S EDGE and G IMANIDIS. Probing the particulate microstructure of the aerodynamic particle size distribution of dry powder inhaler combination products. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2018, vol. 538, no. 1-2, pp. 30–39. Retrieved z: doi:10.1016/j.ijpharm.2017.12.046
- [44] VIRCHOW, Johann Christian, Gianluigi POLI, Christiane HERPICH, Claudius KIETZIG, Hilke EHLICH, Daniela BRAEUTIGAM, Knut SOMMERER, Sabine HÄUSSERMANN and Fabrizia MARIOTTI. Lung deposition of the dry powder fixed combination beclometasone dipropionate plus formoterol fumarate using nexthaler® device in healthy subjects, asthmatic patients, and COPD patients. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery* [online]. 2018, vol. 31, no. 5, pp. 269–280. Retrieved z: doi:10.1089/jamp.2016.1359
- [45] BLOCK, Kathrin. Different inhalation volumes do not impact on the aerodynamics of aclidinium bromide delivered using the Genuair® inhaler. In: *ERS 2010 Barcelona, Spain*. B.m.: Almiral, 2010. Poster book - ACLIDINIUM BROMIDE Posters presented at ERS 2010 Barcelona, Spain.
- [46] ADI, Handoko, Paul M YOUNG and Daniela TRAINI. Co-deposition of a triple therapy drug formulation for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease using solution-based pressurised metered dose inhalers. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 2012, vol. 64, no. 9, pp. 1245–1253. Retrieved z: doi:10.1111/j.2042-7158.2011.01370.x
- [47] ZHANG, Rui, Xinghan SONG, Shuyao ZHAN, Junhua HU and Wen TAN. Investigation of influence factors on particle size measurement with pMDI. n.d.
- [48] MITCHELL, J P, M W NAGEL and Y S CHENG. USE OF THE AEROSIZER® AERODYNAMIC PARTICLE SIZE ANALYZER TO CHARACTERIZE AEROSOLS FROM PRESSURIZED METERED-DOSE INHALERS (pMDIs) FOR MEDICATION DELIVERY. *Journal of aerosol science* [online]. 1999, vol. 30, no. 4, pp. 467–477. Retrieved z: doi:10.1016/S0021-8502(98)00072-X
- [49] Atrovent Inhaler CFC-Free. *emc+* [online]. [accessed. 8. May 2019]. Retrieved z: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/61/smpc>
- [50] LIU, Xiaofei, William H DOUB and Changning GUO. Evaluation of metered dose inhaler spray velocities using phase Doppler anemometry (PDA). *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2012, vol. 423, no. 2, pp. 235–239. Retrieved z: doi:10.1016/j.ijpharm.2011.12.006
- [51] DHAND, Rajiv, Joachim EICHER, Michaela HÄNSEL, Ingeborg JOST, Martin MEISENHEIMER and Herbert WACHTEL. Improving usability and maintaining performance: human-factor and aerosol-performance studies



- evaluating the new reusable Respimat inhaler. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* [online]. 2019, vol. 14, pp. 509–523. Retrieved z: doi:10.2147/COPD.S190639
- [52] PITCAIRN, Gary, Sandie READER, Demetri PAVIA and Steve NEWMAN. Deposition of corticosteroid aerosol in the human lung by Respimat Soft Mist inhaler compared to deposition by metered dose inhaler or by Turbuhaler dry powder inhaler. *Journal of aerosol medicine: the official journal of the International Society for Aerosols in Medicine* [online]. 2005, vol. 18, no. 3, pp. 264–272. Retrieved z: doi:10.1089/jam.2005.18.264
- [53] MEHRI, Rym, Abubakar ALATRASH, Edgar A. MATIDA and Frank FIORENZA. Respimat soft mist inhaler (SMI) in-vitro aerosol delivery with the ODAPT adapter and facemask. *Canadian Journal of Respiratory, Critical Care, and Sleep Medicine* [online]. 2019, pp. 1–10. Retrieved z: doi:10.1080/24745332.2019.1598309
- [54] DALBY, Richard N, Joachim EICHER and Bernd ZIERENBERG. Development of Respimat® Soft Mist<sup>TM</sup> Inhaler and its clinical utility in respiratory disorders. *Medical devices (Auckland, N.Z.)* [online]. 2011, vol. 4, pp. 145–155. Retrieved z: doi:10.2147/MDER.S7409
- [55] PATRAVALE, Vandana, John I. DISOUZA and Maharukh T. RUSTOMJEE. *Pharmaceutical Product Development: Insights Into Pharmaceutical Processes, Management And Regulatory Affairs*. 1st ed. B.m.: Crc Press, 2016.
- [56] WACHTEL, Herbert, Mark NAGEL, Michael ENGEL, Georges EL AZZI, Ashish SHARMA and Jason SUGGETT. In vitro and clinical characterization of the valved holding chamber AeroChamber Plus® Flow-Vu® for administering tiotropium Respimat® in 1-5-year-old children with persistent asthmatic symptoms. *Respiratory Medicine* [online]. 2018, vol. 137, pp. 181–190. Retrieved z: doi:10.1016/j.rmed.2018.03.010
- [57] CICILIANI, Anna-Maria, Peter LANGGUTH and Herbert WACHTEL. In vitro dose comparison of Respimat® inhaler with dry powder inhalers for COPD maintenance therapy. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* [online]. 2017, vol. 12, pp. 1565–1577. Retrieved z: doi:10.2147/COPD.S115886
- [58] ALATRASH, Abubaker. *Experimental and Numerical Study of Inhaler Spray Characterization (Size Distributions and Velocity)*. B.m., 2018. Doctoral dissertation. b.n.
- [59] FAHR, Alfred. *Voigt's Pharmaceutical Technology*. 1st ed. B.m.: Wiley, 2018.

## 9 Zoznam použitých skratiek a symbolov

$\mu$	.....	Dynamická viskozita
ACI	.....	Andersenov kaskádový impaktor (Andersen cascade impactor)
APS	.....	Aerodynamic particle sizer
BDP	.....	Beklometazón dipropionát
$c$	.....	Cunninghamov korekčný faktor
Daer	.....	Aerodynamický priemer
dp	.....	Priemer častice
DPI	.....	Inhalátor na práškovú formu lieku
FEV1	.....	Jednosekundová vitálna kapacita pľúc
FF	.....	Formeterol fumarát
FPF	.....	Frakcia častíc schopných dostať sa za horné dýchacie cesty (Fine particle fraction = <5 $\mu\text{m}$ )
FRC	.....	Funkčná reziduálna kapacita pľúc
$g$	.....	Gravitačné zrýchlenie
GR	.....	Glukokortikostreoidové receptory
GSD	.....	Geometrická standardná odchýlka (Geometric standard deviation)
HFA	.....	Hydrofluoralkány
HPLC	.....	Vysoko výkonná kvapalinová chromatografia (High performance liquid chromatography)
CHOCHP	.....	Chronická obštrukčná choroba pľúc
IC	.....	Inhalačné kortikostreoidy
$k$	.....	Boltzmannova konštanta
LABA	.....	Beta agonista s dlhotrvajúcim účinkom (Long-Acting Beta Abonist)
LAMA	.....	Muskarínový antagonist s dlhotrvajúcim účinkom (Long-Acting Muscarine Antagonist)
LDA	.....	Laservá Dopplerovská anemometria
MDI	.....	Aerosólový dávkovač (Metered dose Inhaler)
MLI	.....	Viacstupňový kvapalinový odlučovač (Multistage liquid impinger)
MMAD	.....	medián hmotnosťou váženej veľkostnej distribúcie aerodynamických priemerov (Mass Median of Aerodynamic diameter)
MMI	.....	Marple-Miller impaktor
NGI	.....	Next generation impaktor
PDA	.....	Fázová dopplerovská anemometria (Phase doppler anemometry)
PDMS	.....	Polydimetylsiloxán
RH	.....	Relatívna vlhkosť
$\rho_p$	.....	Hustota častice

---

SABA	.....	<i>Beta agonista s krátkotrvajúcim účinkom</i>
SMI	.....	<i>SoftMist inhalátor</i>
SPAMS	.....	<i>Single Particle Aerosol Mass Spectrometry</i>
<i>Stk</i>	.....	<i>Stokesovo číslo</i>
<i>T</i>	.....	<i>Termodynamická teplota</i>
TLC	.....	<i>Celková pľúcna kapacita</i>
u-SABA	.....	<i>Beta agonista s ultra-krátkotrvajúcim účinkom</i>
$v_s$	.....	<i>usadzovacia rýchlosť (settling velocity)</i>
WHO	.....	<i>Svetová zdravotnícka organizácia (World health organisation)</i>

## 10 Zoznam použitých obrázkov

Obrázok 1: Geografické znázornenie mortality astmatikov (počet úmrtí na 100 000 pacientov s astmou vo vekovej kategórii od 5 po 34 rokov) - Mapa naľavo; Geografické znázornenie percentuálnej časti populácie, ktorá si môže dovoliť potrebné lieky - Mapa napravo [1].	12
Obrázok 3: Porovnané zmeny jednosekundovej vitálnej kapacity pri pomalom nádychu s max. prietokom 30-60 l/min (biele stĺpce) a rýchlom nádychu s max. prietokom <60 l/min šrafované stĺpce [16].	18
Obrázok 2: Deponované frakcie v jednotlivých častiach dýchacieho systému v závislosti na rozmere častíc. Graf napravo znázorňuje prípad dýchania nosom, graf naľavo prípad dýchania ústami. Najtmavšia krivka označená ako ET reprezentuje horné dýchacie cesty (extrathroatic), krivka označená ako TB predstavuje tracheobronchiálny strom a krivka označená ako P predstavuje koncové časti pľúc. [14]	18
Obrázok 4: Popis kompozície typického MDI [16]	19
Obrázok 5: Schéma zariadenia Respimat SMI (Boehringer Ingelheim) [8]	20
Obrázok 6: Mechanizmus inhalátora NEXThaler. [8]	22
Obrázok 7: Typický dizajn dýzových nebulizérov.	23
Obrázok 8: Znázorňuje rozloženie depozície albuterolu medzi rôzne miesta trate pri inhalácii rôznymi inhalačnými systémami. [6]	24
Obrázok 9: Množstvo do pľúc dopravenej účinnej látky zariadenia Genuair (aclidinium bromide) v závislosti od inhalačných prietokov. Čierne stĺpce predstavujú prípad pri inhalovanom objeme 2 l, šedé pri objeme 4 l. [23]	26
Obrázok 10: Rozdelenie depozície aerosólu zo zariadenia Genuair medzi orofaryngálnu oblasť, celé pľúca, samotné zariadenie a vydychnutú časť dávky. [23]	27
Obrázok 11: Znázornenie impakcie a dizajn Andersenovho kaskádového impaktora.	30
Obrázok 12: Kumulatívne vykreslenie aerodynamických priemerov častíc usadených na konkrétnom zbernom plátku. [35]	32
Obrázok 13: Schémy a náčrty popisovaných impaktorov. [59]	33
Obrázok 14: Next Generation Impaktor. [35]	33
Obrázok 15: Závislosť rozmerov usadených častíc na jednotlivých stupňoch NGI pri rôznych prietokoch.	33
Obrázok 16: Neutesnený impaktor s adaptérom v zostave pre meranie DPI s prietokom 60 l/min.	36
Obrázok 17: Váženie plátku po experimente.	37
Obrázok 18: Utesnený ACI v zostave na meranie DPI, v pozadí sú mištičky na vyplachovanie metanolom.	37
Obrázok 19: Vyplachovanie stupňa impaktora pomocou injekčnej striekačky.	38
Obrázok 20: Chromatogram BDP (červená krivka predstavuje analyt, modrá vzorku) a kalibračná krivka [41]	38
Obrázok 21: Trať pri meraní DPI pomocou APS. (Box je pri meraní uzatvorený)	39
Obrázok 22: Meranie Atroventu na PDA.	40
Obrázok 23: Meranie zariadenia Respimat SMI na modeli horných dýchacích ciest.	42
Obrázok 24: Meranie Respimatu SMI pomocou systému PDA.	43
Obrázok 25: Preloženie celej nameranej distribúcie BDP na ACI pri meraní Fostair NEXThaleru lognormálnou distribúciou.	44
Obrázok 26: Úprava bimodálnej distribúcie osamostatnením požadovaného módu. (veľkostná distribúcia častíc Fostair NEXThaleru zmeraná na APS).	45
Obrázok 27: Celá distribúcia Fostair NEXThaleru stanovená gravimetricky.	46
Obrázok 28: Upravená distribúcia nameraná na ACI. Červeným obrysom sú zvýraznené hodnoty, ktoré boli upravené.	47
Obrázok 29: Veľkostná distribúcia častíc zariadenia Fostair NEXThaler stanovená pomocou HPLC.	48
Obrázok 30: Osamostatnený modus malých častíc z merania zariadenia Fostair NEXThaler pomocou HPLC.	48
Obrázok 31: Spriemerované normalizované hmotnosti jednotlivých tried veľkostného rozloženia častíc Fostair NEXThaleru merané na APS.	49
Obrázok 32: Modus malých častíc z distribúcie zariadenia Fostair v súradniciach APS.	50

Obrázok 33: Modus menších častíc aerosólu Fostair NEXThaleru preložený lognormálnou distribúciou.....	50
Obrázok 34: Hore: Rozloženie osamostatneného nárastu väčších častíc v logarimických súradniciach. Dole: Modus väčších častíc preložený lognormálnou distribučnou funkciou.....	51
Obrázok 35: Rozloženie navážených hmotností na impaktore pri oboch typoch merania.....	52
Obrázok 36: Veľkostná distribúcia po nahradení hodnôt prvých troch stupňov.....	53
Obrázok 37: Veľkostné spektrum v súradniciach APS.....	53
Obrázok 38: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zariadenia Brimica Genuair stanovená pomocou APS, preložená lognormálnou distribučnou funkciou.....	54
Obrázok 39: Veľkostné rozloženie častíc aerosólu inhalátora Atrovent stanovené gravimetricky pomocou ACI.....	55
Obrázok 40: Veľkostné spektrum častíc aerosólového dávkovača Atrovent stanovené pomocou APS pred úpravou a po úprave dátového súboru.....	56
Obrázok 41: Veľkostné spektrum aerosólu zo zariadenia Atrovent stanovené pomocou APS a preložené lognormálnou distribučnou funkciou.....	56
Obrázok 42: Veľkostná distribúcia 1. merania zariadenia Atrovent pomocou PDA.....	57
Obrázok 43: Horný graf uvádza preloženie rýchlostného profilu parabolickou funkciou, spodný graf uvádza preloženie vyhladzovacím splajnom.....	59
Obrázok 45: Veľkostné rozloženie častíc zariadenia Respimat SMI merané na ACI pomocou fluorescencie.....	60
Obrázok 44: Vplyv vyplachovania stupňov, teda rozdiel zisteného množstva deponovaných častíc danej veľkostnej triedy pri vyplachovaní stupňov a bez neho vyjadrený ako percento z množstva deponovaného na plátku.....	60
Obrázok 46: Veľkostná distribúcia aerosólu zariadenia Respimat s náplňou Spiolto preložená lognormálnou distribučnou funkciou.....	61
Obrázok 47: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu preložená lognormálnou distribučnou funkciou.....	62
Obrázok 48: Veľkostná distribúcia častíc aerosólu zo zariadenia Respimat SMI Placebo pri dávkovaní s nižšou frekvenciou. Porovnanie neupravenej distribúcie a osamostatnenej distribúcie ...	62
Obrázok 49: Početnostná distribúcia aerosólu zo zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meraná systémom PDA.....	64
Obrázok 50: Početnostná distribúcia aerosólu zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu preložená lognormálnou distribučnou funkciou.....	64
Obrázok 51: Rýchlostný profil zariadenia Respimat SMI preložený parabolou (hore) a splajnom (dole).....	65
Obrázok 52: Vykreslenie rozdelenia dávky podľa miesta depozície na častice usadené v horných dýchacích cestách a častice, ktoré sa dostali za horné dýchacie cesty.....	66
Obrázok 53: Veľkostná distribúcia zariadenia Fostair Nexthaler meraná na Single Particle Aerosol Mass Spectrometry zo zdroja [42].....	67
Obrázok 54: Rozloženie BDP namerané pomocou HPLC v zdroji [44].....	67
Obrázok 55: Upravené distribúcie z 2. a 3. gravimetrického merania spolu s údajmi z HPLC analýzy.....	68
Obrázok 56: Porovnanie gravimetricky stanovených údajov z ACI s údajmi zo zdroja [45].....	70
Obrázok 57: Veľkostná (hmotnostná) distribúcia stanovená na APS pri umiestnení tesne pri sonde.....	72
Obrázok 58: Početnostná distribúcia aerosólu zo zariadenia Atrovent meraná pri rôznych umiestneniach zariadenia: tesne pred izokinetickou sondou a vo vzdialenosti 10 cm od nej.....	72
Obrázok 59: Veľkostná (hmotnostná) distribúcia stanovená na APS pri umiestnení sondy vo vzdialenosti 10 cm od inhalátora pri troch meraniach nasledujúcich po sebe.....	72
Obrázok 60: Početnostná distribúcia častíc zariadenia Atrovent určená pomocou PDA.....	74
Obrázok 61: Veľkostná distribúcia zariadenia Respimat SMI stanovená pomocou ACI po nahradení hodnôt posledných stupňov impaktora.....	75
Obrázok 62: Rýchlostný profil prúdu aerosólu zariadenia Respimat Spiriva podľa práce zo zdroja [58].....	78

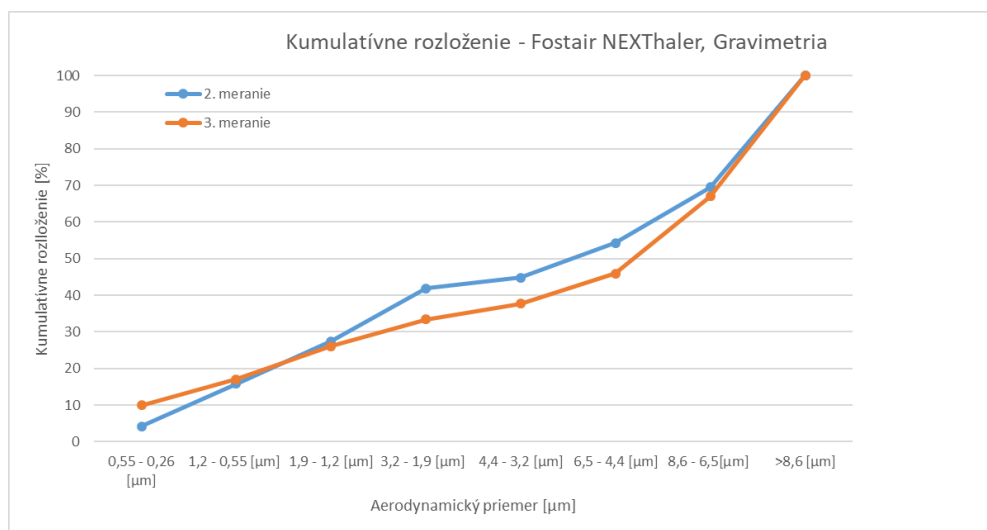
## 11 Zoznam použitých tabuliek

Tabuľka 1: Popis distribúcie receptorov v dýchacom systéme a účinok ich stimulácie [6].	14
Tabuľka 2: Znázorňuje hodnoty odporov DPI a zároveň ich FPF, pričom je možné si všimnúť závislosť medzi týmito parametrami.[21]	21
Tabuľka 3: Priemerné hmotnosti navážené 10 váženiami každého plátku a ich neistoty.	46
Tabuľka 4: Výsledné MMAD a GSD z gravimetrických meraní inhalátora Fostair NEXThaler pomocou ACI.	47
Tabuľka 5: Výsledky merania zariadenia Fostair NEXThaler pomocou HPLC.	48
Tabuľka 6: Parametre distribúcie častíc Fostair NEXThaler nameranej pomocou APS (Obrázok 33).	49
Tabuľka 7: Parametre módu malých častíc stanovené priamo zo spriemerovaného súboru meraní na APS a po preložení lognormálnou distribučnou funkciou.	49
Tabuľka 8: Parametre módu väčších častíc stanovené priamo zo spriemerovaného súboru meraní na APS a po preložení lognormálnou distribučnou funkciou.	50
Tabuľka 9: Spriemerované navážené hmotnosti na zberných plátkoch impaktora pri oboch typoch merania a im prislúchajúce rozšírené neistoty U.	52
Tabuľka 10: Parametre distribúcií po nahradení hodnôt prvých troch stupňov impaktora. (Obrázok 27).	53
Tabuľka 11: Parametre veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Brimica Genuair merané pomocou APS.	54
Tabuľka 12: Navážené hodnoty pri gravimetrickom meraní zariadenia Atrovent spolu s rozšírenými neistotami U.	55
Tabuľka 13: Parametre veľkostnej distribúcie inhalátora Atrovent stanovené gravimetricky pomocou ACI.	55
Tabuľka 14: Parametre neupravenej a upravenej veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Atrovent a distribúcie preloženej lognormálnou distribučnou funkciou.	57
Tabuľka 15: Výsledky merania zariadenia Atrovent pomocou PDA.	57
Tabuľka 16: Rýchlostný profil v horizontálnej rovine.	58
Tabuľka 17: Výsledky merania zariadenia Respimat SMI na ACI.	60
Tabuľka 18: Porovnanie parametrov distribúcie častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI pomocou APS pri náplni Spiolto a náplni s roztokom fluoresceinu.	61
Tabuľka 19: Parametre veľkostnej distribúcie častíc inhalátora Respimat s náplňou Placebo stanovenej na APS pri dávkovaní s frekvenciou cca 1 dávka za 4 s.	63
Tabuľka 20: Výsledky merania zariadenia Respimat SMI pomocou PDA. Horná tabuľka predstavuje volumetrické rozloženie a dolná početnostné.	63
Tabuľka 21: FPF respektíve frakcia častíc, ktoré sa dostali za ústnu dutinu.	66

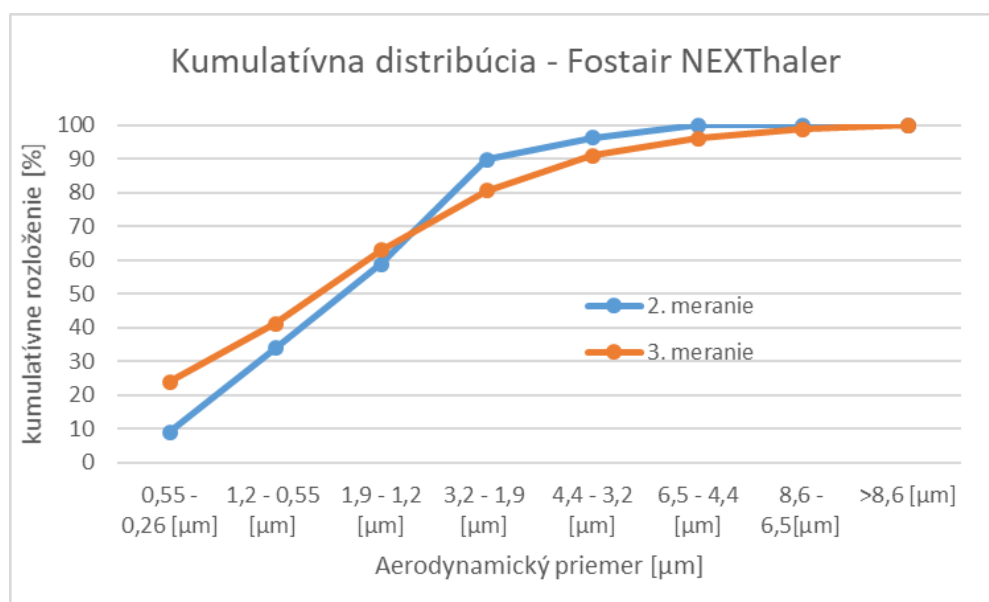
## 12 Prílohy

### 12.1 Veľkostné distribúcie aerosólu z Fostair NEXThaleru

#### 12.1.1 Kumulatívne vyjadrenie neupravenej distribúcie meranej gravimetricky na ACI



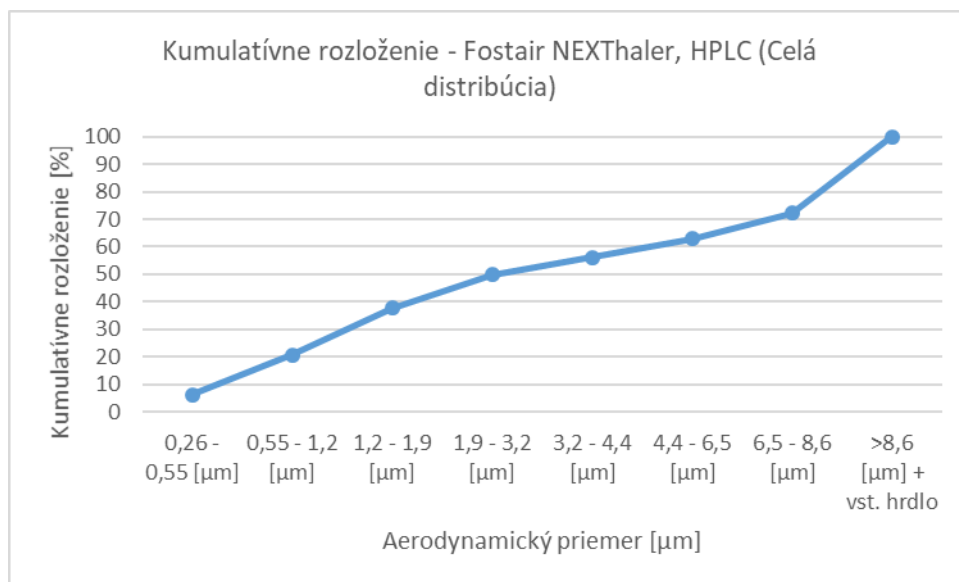
Príloha 1: Kumulatívne vyjadrenie rozloženia veľkosti častíc aerosólu z Fostair NEXThaleru nameraných gravimetricky na ACI (neupravená distribúcia)



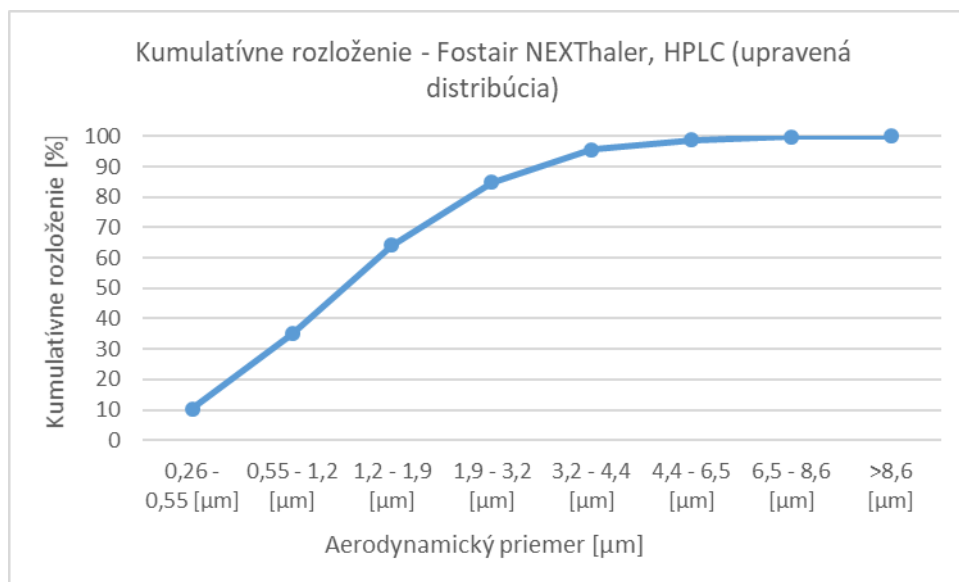
Príloha 2: Kumulatívne vyjadrenie módu malých častíc distribúcie nameranej gravimetricky na ACI.



### 12.1.2 Kumulatívne vyjadrenie neupravenej distribúcie meranej pomocou HPLC na ACI

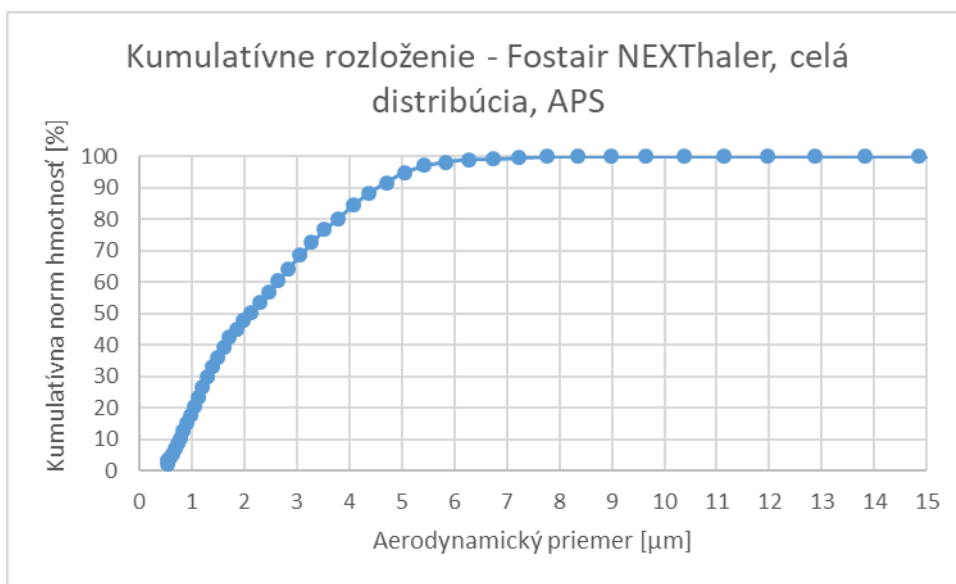


Príloha 3: kumulatívne vyjadrená distribúcia častíc BDP (Fostair NEXThaler) stanovená pomocou HPLC (neupravená distribúcia).

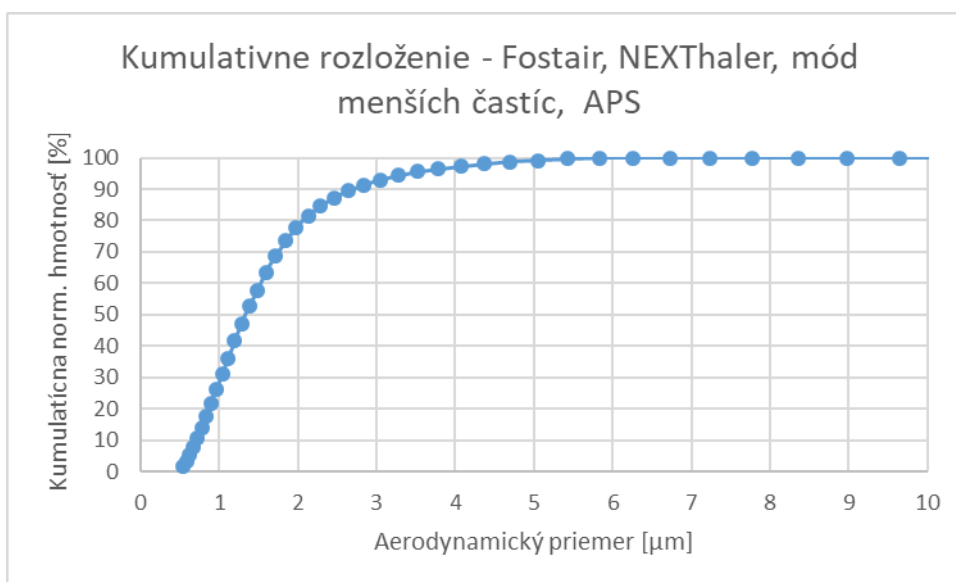


Príloha 4: Kumulatívne vyjadrený mód malých častíc distribúcie BDP (Fostair NEXThaler) meranej na ACI pomocou HPLC

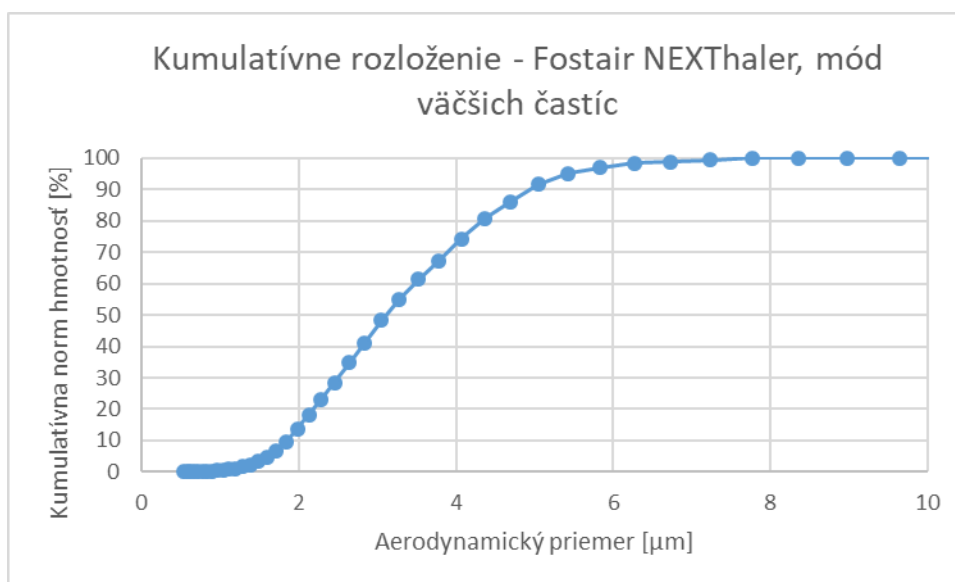
### 12.1.3 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu Fostair NEXThaleru meranej pomocou APS



Príloha 5: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej (bimodálnej) distribúcie častíc aerosólu z Fostair NEXThaleru meranej na APS.



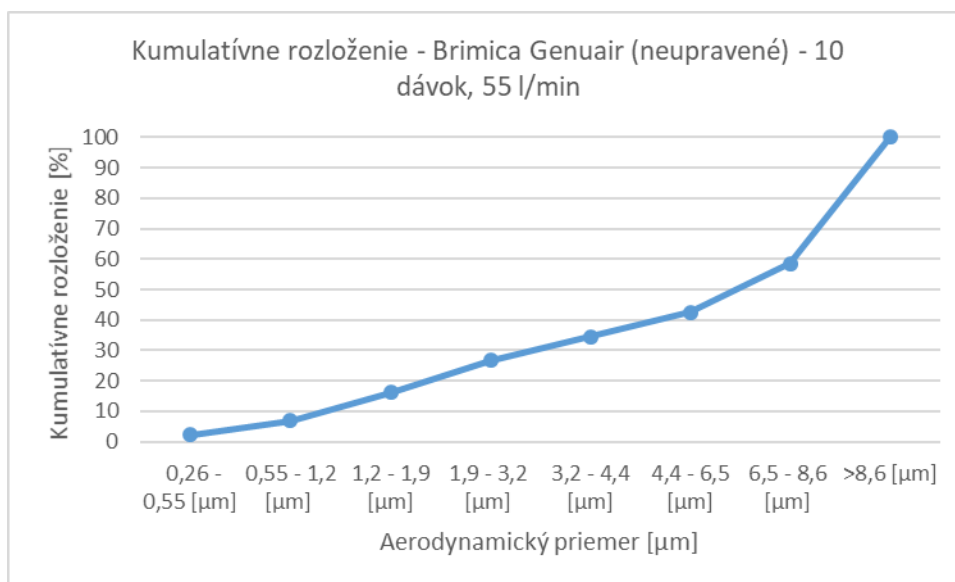
Príloha 6: Kumulatívne vyjadrenie módu malých častíc Fostair NEXThaleru osamostatneného z bimodálnej distribúcie nameranej na APS.



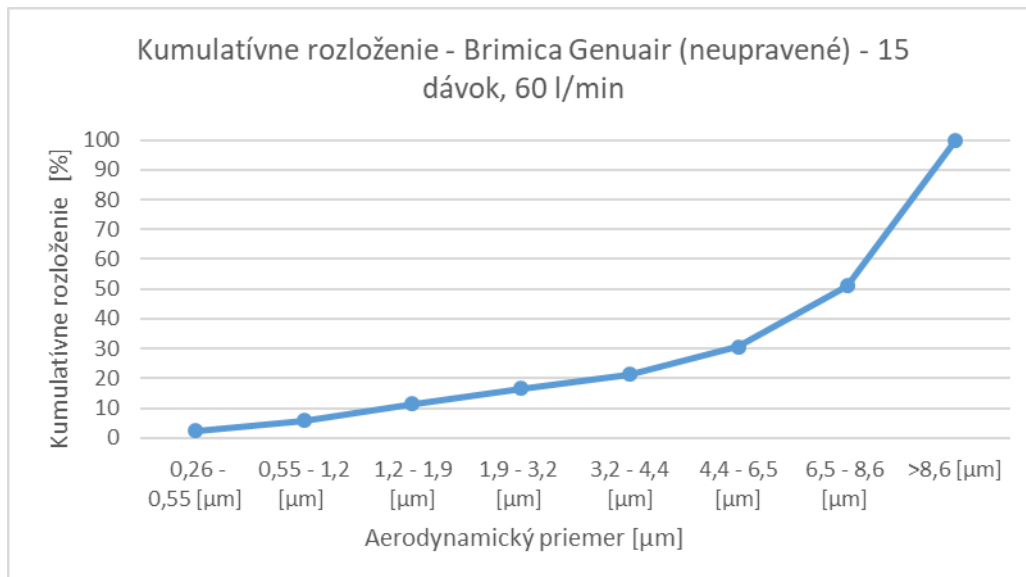
Príloha 7: Kumulatívne vyjadrenie módu väčších častíc bimodálnej veľkostnej distribúcie častíc Fostair NEXThaleru meranej na APS

## 12.2 Brimica Genuair

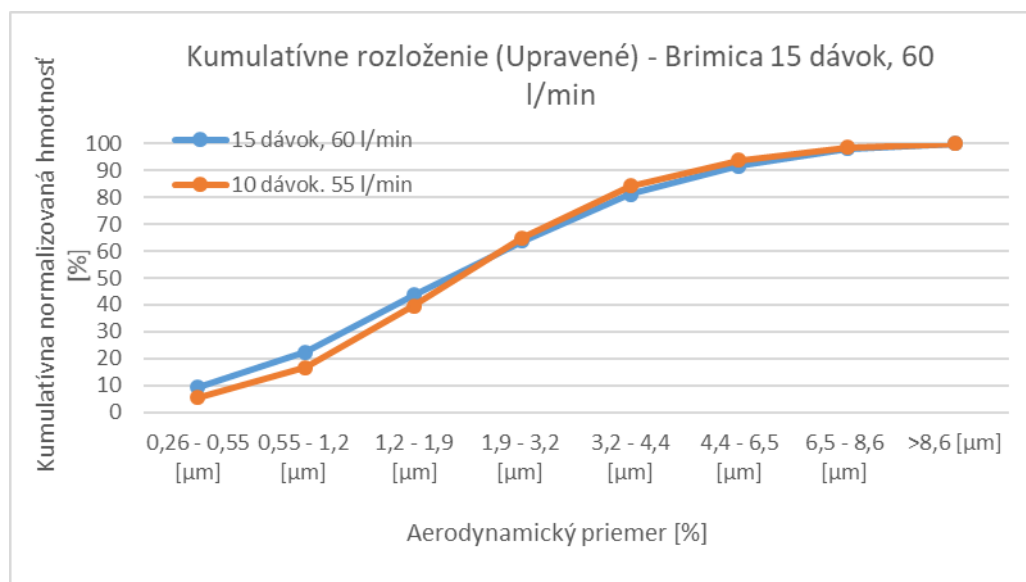
### 12.2.1 Veľkostná distribúcia častíc inhalátora Brimica Genuair meraná na ACI



Príloha 8: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc z inhalátora Brimica Genuair meranej na ACI pri 55 l/min a 10 dávkach.

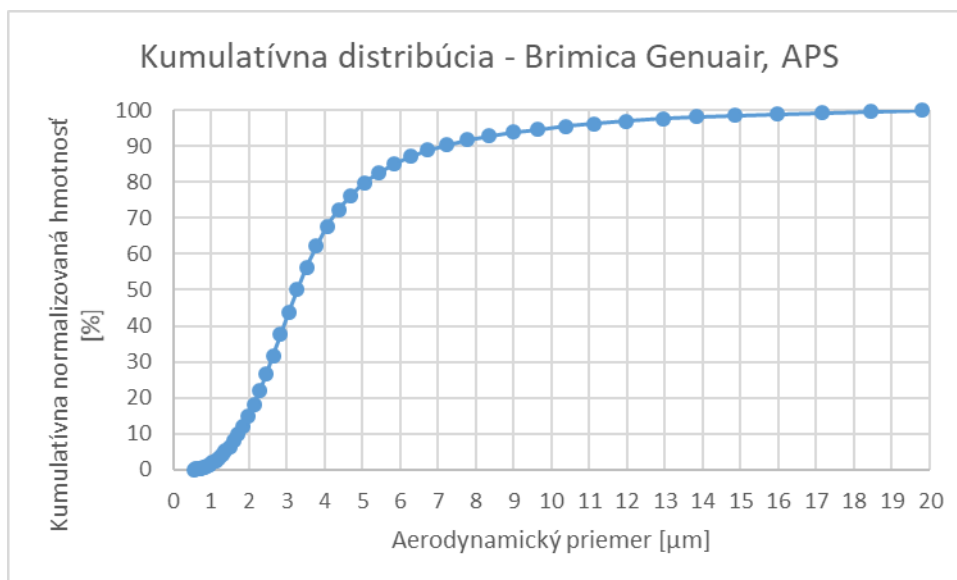


Príloha 9: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zo zariadenia Brimica Genuair meranej na ACI pri 60 l/min a 15 dávkach.



Príloha 10: Kumulatívne rozloženie upravenej veľkostnej distribúcie častíc meranej gravimetricky na ACI.

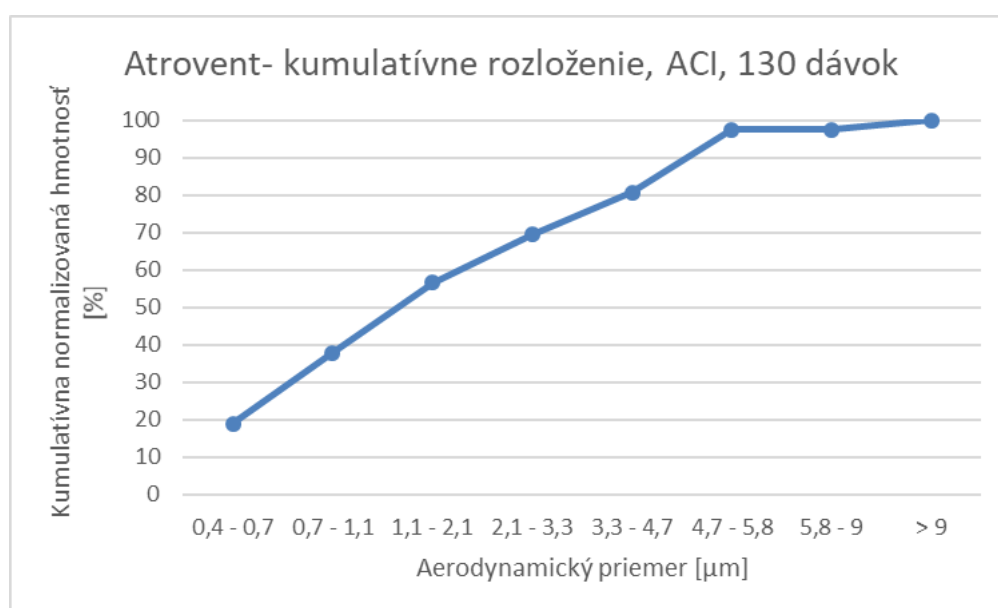
### 12.2.2 Kumulatívna veľkostná distribúcia častíc aerosólu inhalátora Brimica Genuair meraná na APS



Príloha 11: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zariadenia Brimica Genuair meranej na APS.

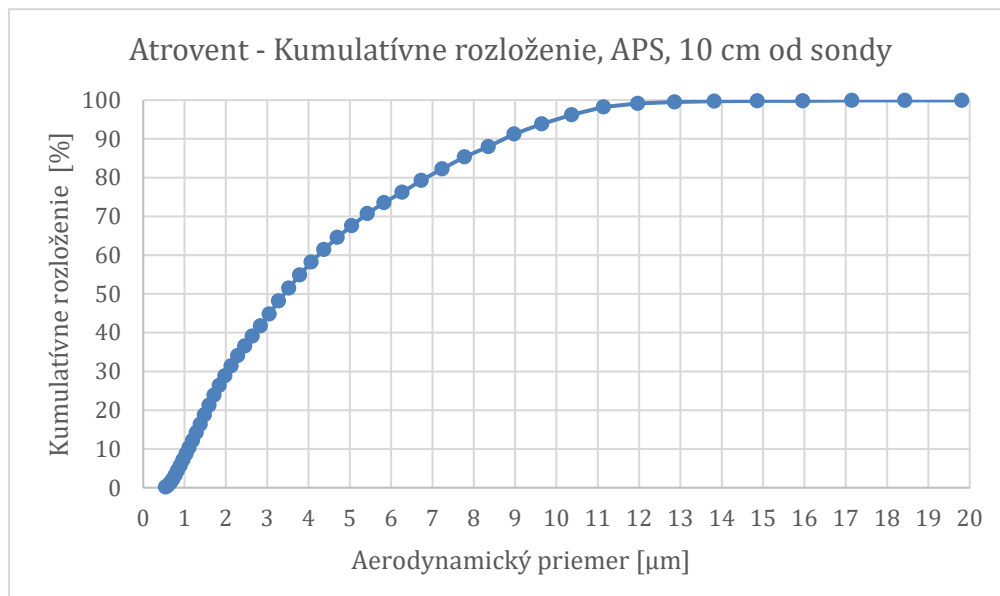
## 12.3 Atrovent

### 12.3.1 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané na ACI

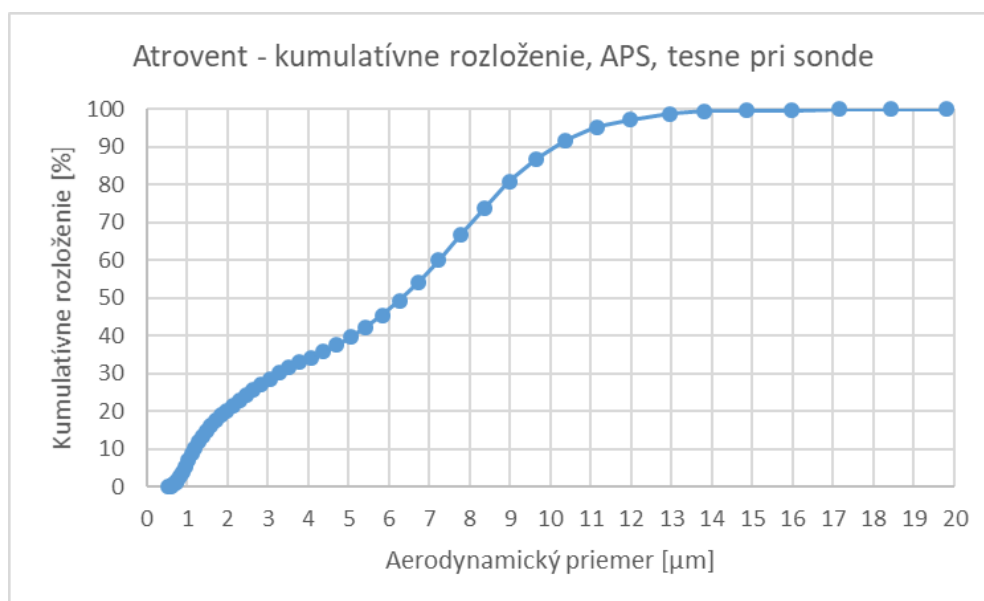


Príloha 12: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranie na ACI pri použití 130 dávok.

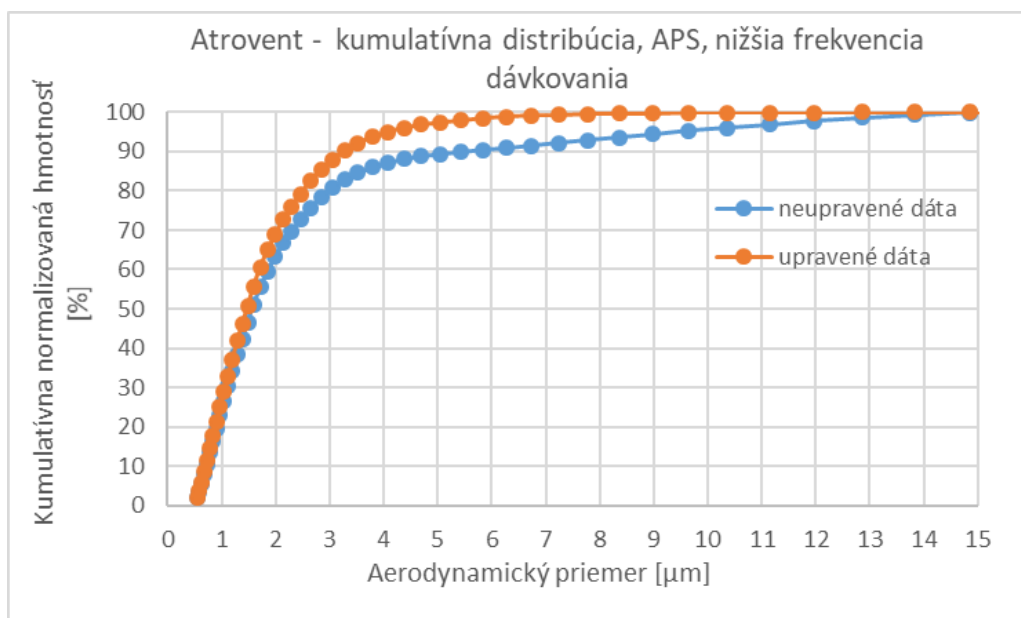
### 12.3.2 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané pomocou APS



Príloha 13: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS umiestnení náustku 10 od izokinetickej sondy.

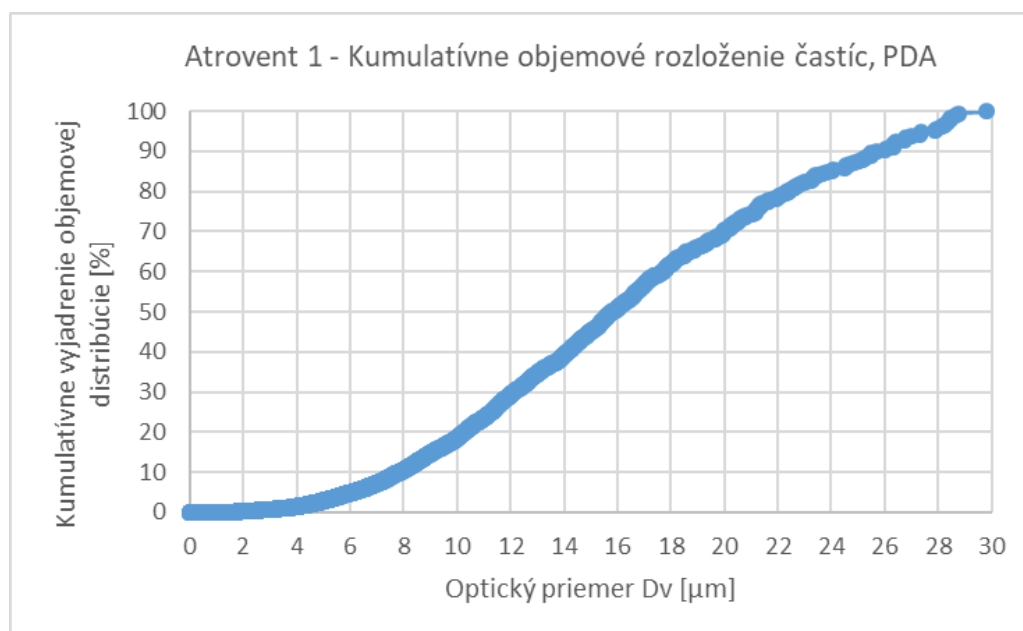


Príloha 14: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS umiestnení náustku tesne pri izokinetickej sonde.



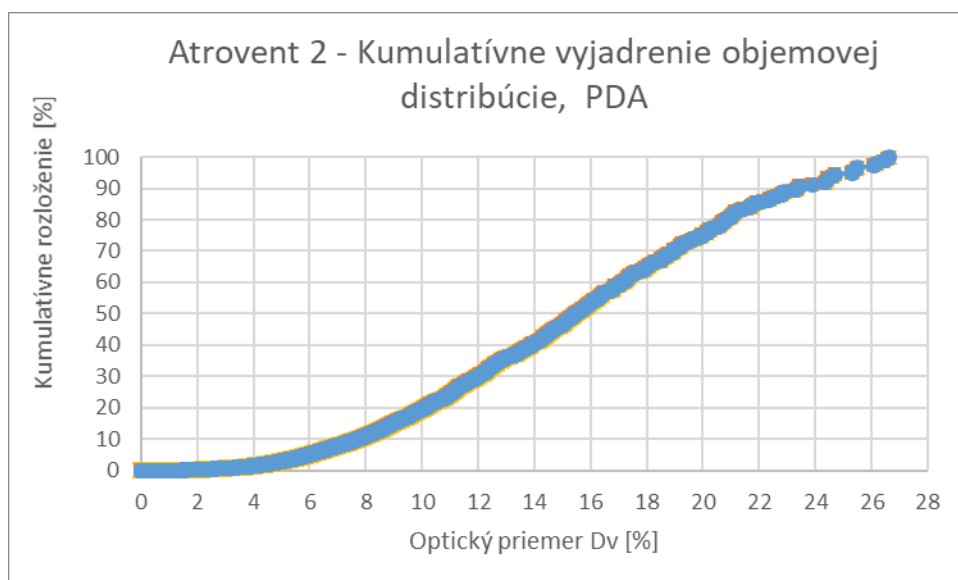
Príloha 15: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS pri nižšej frekvencii dávkovania.

### 12.3.3 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Atrovent merané pomocou PDA

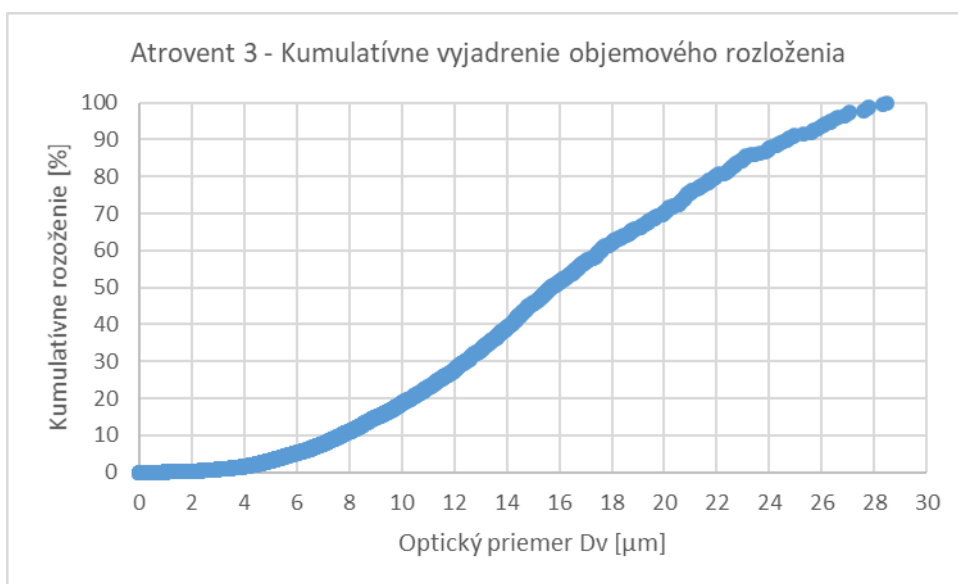


Príloha 16: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm – 1. meranie.





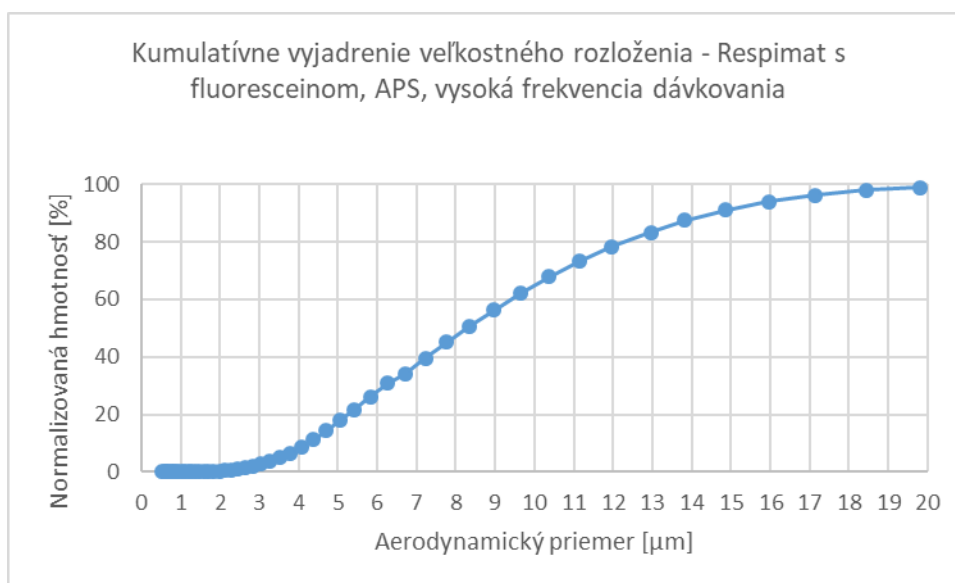
*Príloha 17: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm – 2. meranie.*



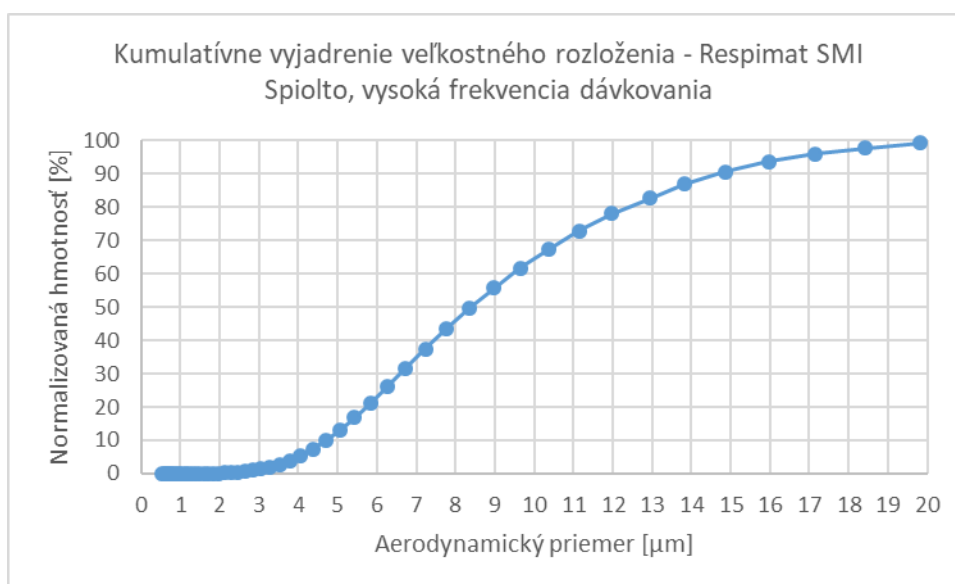
*Príloha 18: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm - 3. meranie.*

## 12.4 Respimat SMI

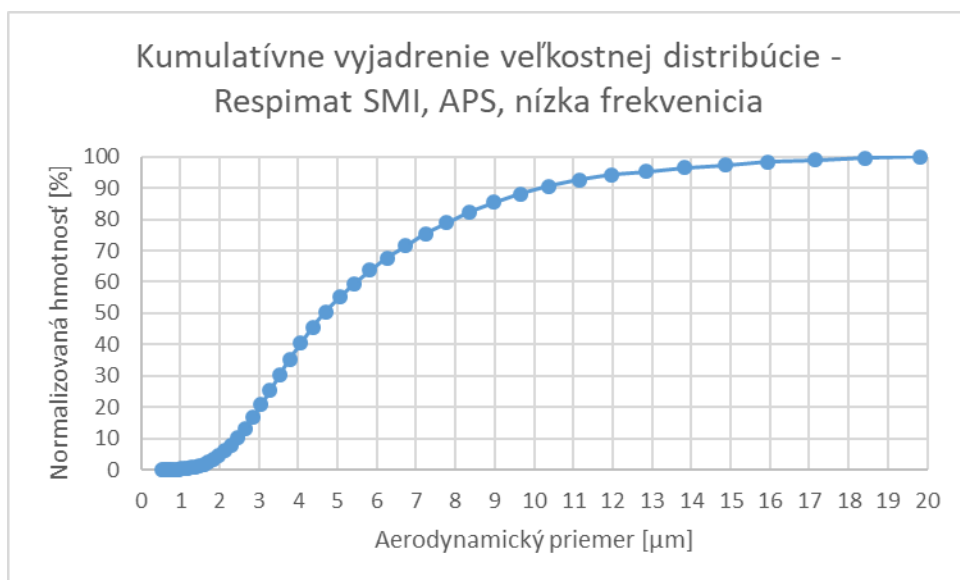
### 12.4.1 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI merané na APS



Príloha 19: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu meranej na APS pri vysokej frekvencii dávkovania

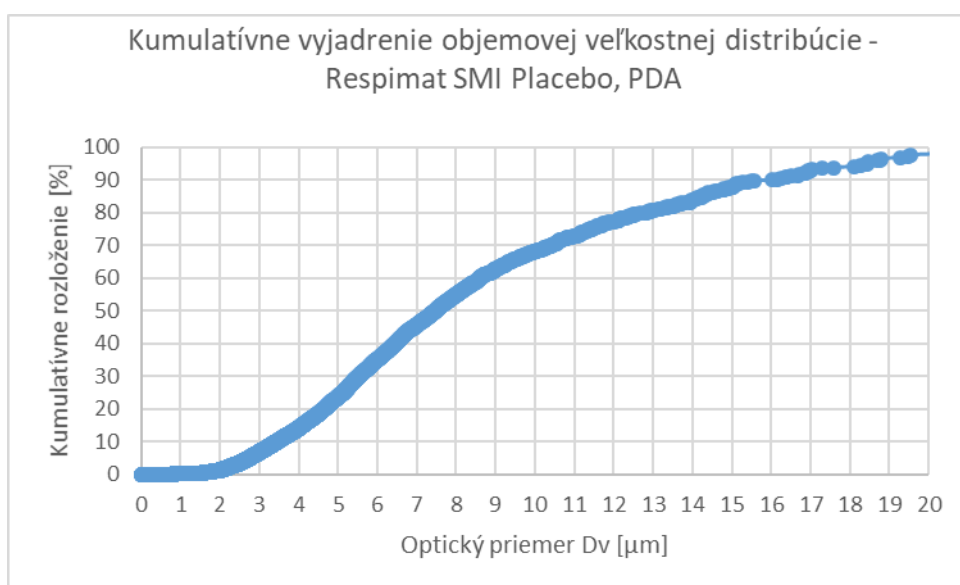


Príloha 20: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Spiolto meranej na APS pri vysokej frekvencii dávkovania

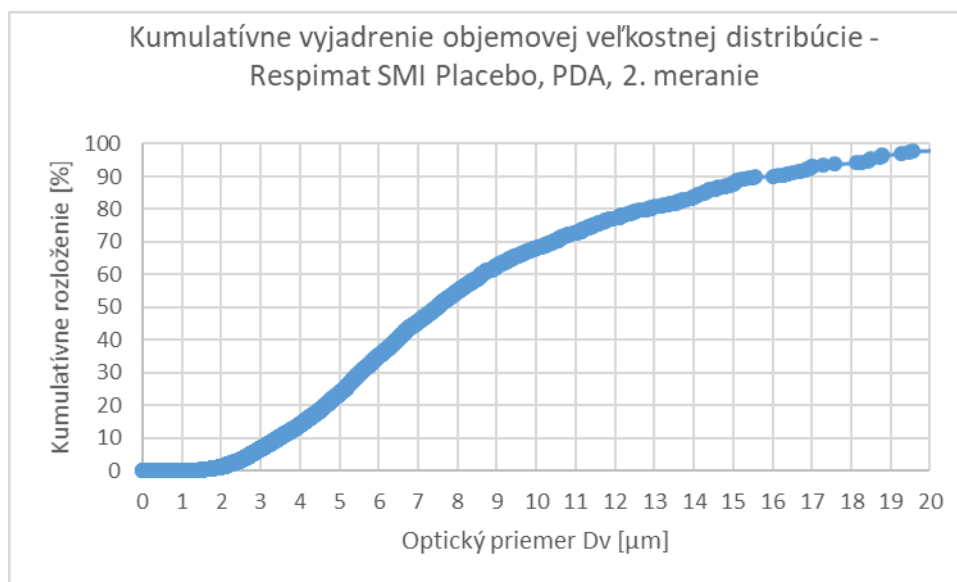


Príloha 21: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zo zariadenia Respimat SMI s náplňou placebo meranej na APS pri nízkej frekvencii dávkovania.

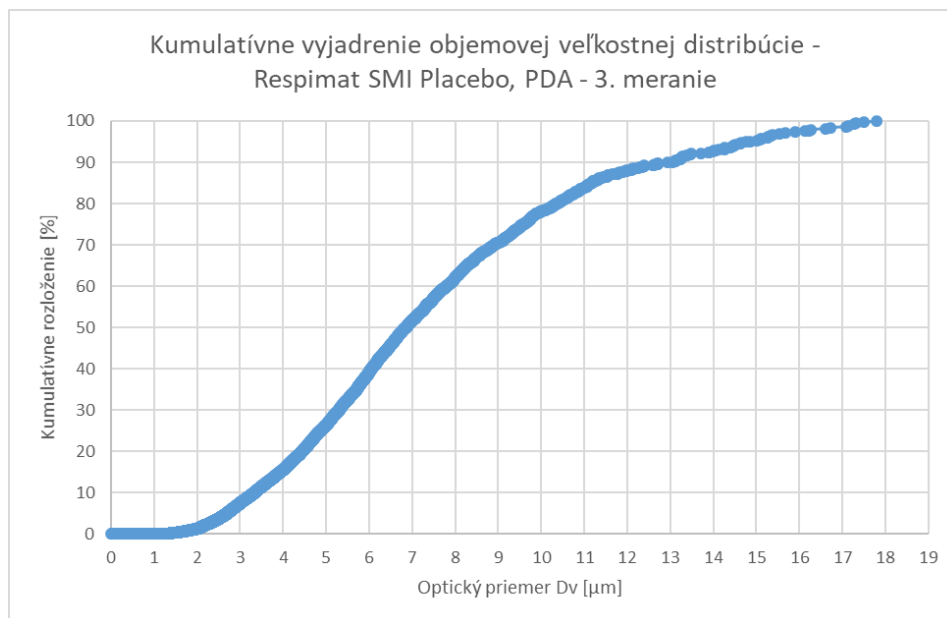
#### 12.4.2 Kumulatívne vyjadrenie veľkostných distribúcií zariadenia Respimat SMI meraných pomocou PDA



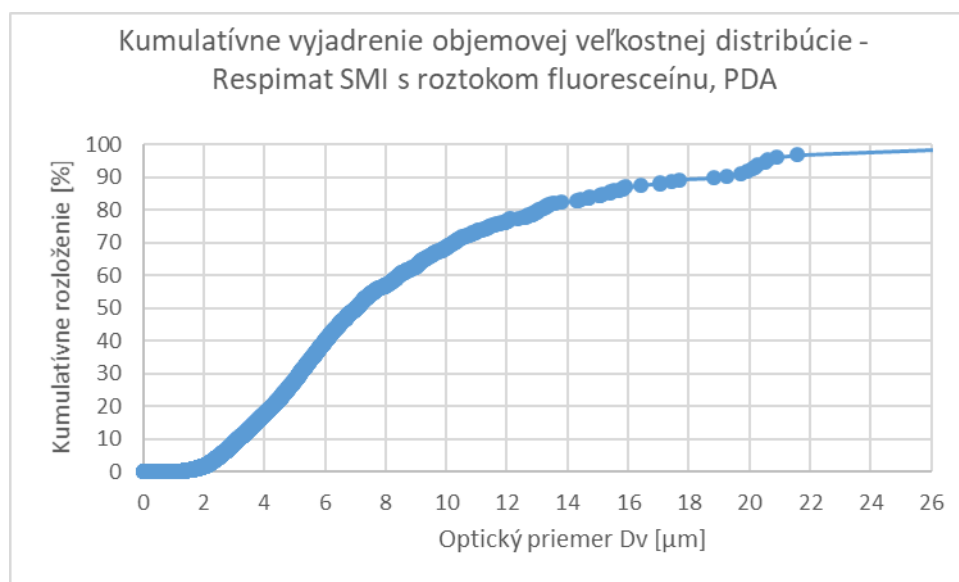
Príloha 22: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zo zariadenia Respimat SMI Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm od dýzy - 1. meranie.



Príloha 23: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm – 2. meranie.

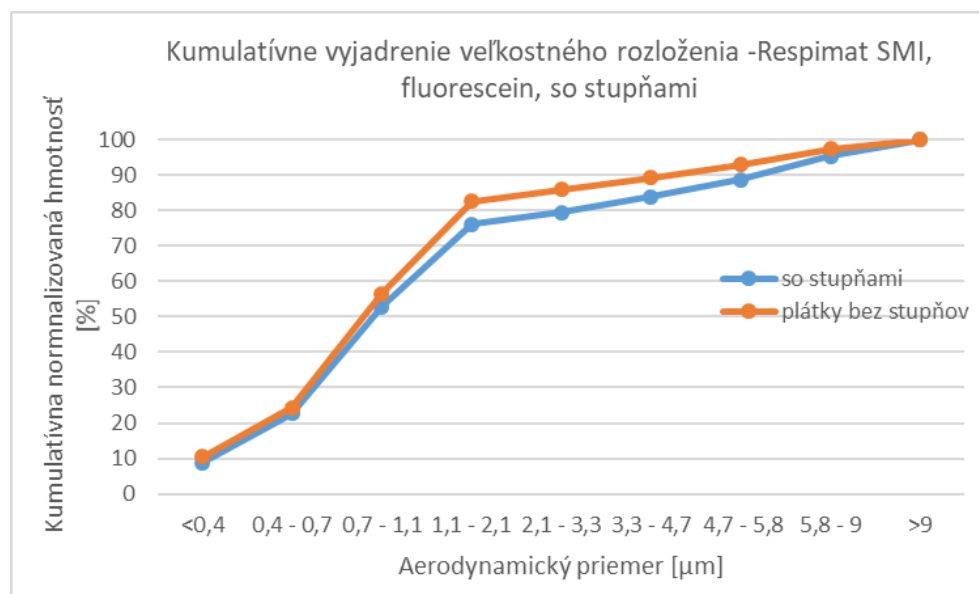


Príloha 24: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm – 3. meranie.



Príloha 25: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zo zariadenia Respimat AMI s náplňou s roztokom fluoresceínu meranej pomocou PDA

### 12.4.3 Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zariadenia Respimat SMI meranej pomocou ACI s využitím fluorescence



Príloha 26: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu meranej na ACI s využitím fluorescence. Jedna krivka ukazuje rozloženie získané bez vypláchnutia stupňov, druhá spolu s nimi.

## 13 Zoznam príloh

Príloha 1: Kumulatívne vyjadrenie rozloženia veľkosti častíc aerosólu z Fostair NEXThaleru nameraných gravimetricky na ACI (neupravená distribúcia).....	92
Príloha 2: Kumulatívne vyjadrenie módu malých častíc distribúcie nameranej gravimetricky na ACI.....	92
Príloha 3: kumulatívne vyjadrená distribúcia častíc BDP (Fostair NEXThaler) stanovená pomocou HPLC (neupravená distribúcia).....	93
Príloha 4: Kumulatívne vyjadrený mód malých častíc distribúcie BDP (Fostair NEXThaler) meranej na ACI pomocou HPLC.....	93
Príloha 5: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej (bimodálnej) distribúcie častíc aerosólu z Fostair NEXThaleru meranej na APS.....	94
Príloha 6: Kumulatívne vyjadrenie módu malých častíc Fostair NEXThaleru osamostatneného z bimodálnej distribúcie nameranej na APS.....	94
Príloha 7: Kumulatívne vyjadrenie módu väčších častíc bimodálnej veľkostnej distribúcie častíc Fostair NEXThaleru meranej na APS.....	95
Príloha 8: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc z inhalátora Brimica Genuair meranej na ACI pri 55 l/min a 10 dávkach.....	95
Príloha 9: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zo zariadenia Brimica Genuair meranej na ACI pri 60 l/min a 15 dávkach.....	96
Príloha 10: Kumulatívne rozloženie upravenej veľkostnej distribúcie častíc meranej gravimetricky na ACI.....	96
Príloha 11: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zariadenia Brimica Genuair meranej na APS.....	97
Príloha 12: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranie na ACI pri použití 130 dávok.....	97
Príloha 13: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS umiestnení náustku 10 od izokinetickej sondy.....	98
Príloha 14: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS umiestnení náustku tesne pri izokinetickej sonde.....	98
Príloha 15: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej na APS pri nižšej frekvencii dávkovania.....	99
Príloha 16: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm – 1. meranie.....	99
Príloha 17: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm – 2. meranie.....	100
Príloha 18: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zariadenia Atrovent meranej pomocou PDA vo vzdialenosti 8 cm - 3. meranie.....	100
Príloha 19: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou s roztokom fluoresceínu meranej na APS pri vysokej frekvencii dávkovania.....	101
Príloha 20: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Spiolto meranej na APS pri vysokej frekvencii dávkovania.....	101
Príloha 21: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zo zariadenia Respimat SMI s náplňou placebo meranej na APS pri nízkej frekvencii dávkovania.....	102
Príloha 22: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie častíc zo zariadenia Respimat SMI Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm od dýzy - 1. meranie.....	102
Príloha 23: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm – 2. meranie.....	103
Príloha 24: Kumulatívne vyjadrenie objemovej veľkostnej distribúcie zariadenia Respimat SMI s náplňou Placebo meranej na PDA vo vzdialenosti 8 cm – 3. meranie.....	103
Príloha 25: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu zo zariadenia Respimat AMI s náplňou s roztokom fluoresceínu meranej pomocou PDA.....	104
Príloha 26: Kumulatívne vyjadrenie veľkostnej distribúcie častíc aerosólu meranej na ACI s využitím fluorescencie. Jedna krivka ukazuje rozloženie získané bez vypláchnutia stupňov, druhá spolu s nimi.....	104